POLYPUBLIE
Polytechnique Montréal

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL
UNIVERSITÉ D'INGÉNIERIE

Titre: Title:	Teneurs en métaux dans les liquides des cigarettes électroniques: potentiel de relargage des métaux à partir des éléments chauffants et évaluation de l'exposition
Auteur: Author:	Claudia Carolina Alcantara Rojas
Date:	2022
Type:	Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis
Référence: Citation:	Alcantara Rojas, C. C. (2022). Teneurs en métaux dans les liquides des cigarettes électroniques: potentiel de relargage des métaux à partir des éléments chauffants et évaluation de l'exposition [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/10695/

Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: PolyPublie URL:	https://publications.polymtl.ca/10695/
Directeurs de recherche: Advisors:	Gérald J. Zagury
Programme: Program:	Génie minéral

Ce fichier a été téléchargé à partir de PolyPublie, le dépôt institutionnel de Polytechnique Montréal
This file has been downloaded from PolyPublie, the institutional repository of Polytechnique Montréal

https://publications.polymtl.ca

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Teneurs en métaux dans les liquides des cigarettes électroniques: potentiel de relargage des métaux à partir des éléments chauffants et évaluation de l'exposition

CLAUDIA CAROLINA ALCANTARA ROJAS

Département des génies civil, géologique et des mines

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie minéral

Novembre 2022

©Claudia Alcantara, 2022.

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Teneurs en métaux dans les liquides des cigarettes électroniques: potentiel de relargage des métaux à partir des éléments chauffants et évaluation de l'exposition

présenté par **Claudia Carolina ALCANTARA ROJAS**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise è sciences appliquées*

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Benoît BARBEAU, président

Gérald J. ZAGURY, membre et directeur de recherche

Maximilien DEBIA, membre

REMERCIEMENTS

Au début, je voudrais remercier le professeur Gérald J. Zagury pour son encadrement académique, ses conseils et sa disponibilité, malgré les circonstances, tout au long de ma maîtrise, ainsi que pour m'avoir donné l'opportunité de débuter dans la recherche scientifique. Sa rigueur analytique et son expertise scientifique m'auront permis de bien accomplir ce projet.

Je voudrais aussi remercier Laura Chaparro pour son aide inconditionnelle et son soutien depuis le début de mon projet de recherche. J'ai bien apprécié son professionnalisme autant que son amitié.

La réalisation de ce projet n'aurait pas été possible sans le partenariat clé entre l'organisme Mitacs (programme Mitacs accélération) et les Laboratoires Vaporus qui ont collaboré au financement du projet. Je remercie infiniment les Laboratoires Vaporus qui m'ont accueillie en stage au sein de l'entreprise. J'ai pu y apprendre les processus de fabrication des e-liquides, ce qui fut une information primordiale pour le déroulement de cette recherche.

Je tiens également à souligner l'indispensable soutien technique apporté par Jérôme Leroy lors de la phase expérimentale de la recherche. Ses conseils ont été une grande aide pour réaliser les expériences au laboratoire de façon plus sécuritaire. Un merci également à Madjid Hadioui (UdeM) pour les analyses ICP-MS réalisées dans le cadre de ce projet.

Enfin, un gros merci à ma famille; votre amour et votre compréhension auront toujours été les moteurs principaux pour surmonter chaque défi.

RÉSUMÉ

Le tabagisme reste encore la raison principale de risque d'incapacité et de mort prématurée au pays. De nos jours, diverses méthodes de sevrage tabagique sont offertes, comme des traitements pharmacologiques ou encore de l'acupuncture. Malheureusement, celles-ci possèdent un faible taux de réussite, et soient qu'elles ont un prix élevé ou qu'elles ne sont pas totalement satisfaisantes, entravant ainsi le sevrage pour les fumeurs. Les cigarettes électroniques (CÉ) ont été introduites sur le marché Nord-américain autour de 2007 comme des dispositifs alternatifs aux cigarettes conventionnelles.

Le processus de combustion de la cigarette conventionnelle implique de brûler du tabac, tandis que les CÉ génèrent des aérosols à partir du chauffage de liquides (e-liquides) pouvant contenir de la nicotine, du propylène glycol, de la glycérine végétale et des arômes. Aujourd'hui, les CÉ sont bien acceptées parmi les adultes cherchant à abandonner la cigarette conventionnelle. Cependant, bien qu'il soit largement reconnu que la CÉ est beaucoup moins dommageable pour la santé que la cigarette conventionnelle, peu d'information est présentement disponible sur les risques potentiels sur la santé que peut entraîner la consommation à long terme de la CÉ. Il est connu que les éléments chauffants des atomiseurs dans les e-cigarettes peuvent contribuer à la présence de divers analytes métalliques dans les e-liquides (p.ex., cuivre, chrome), se rendant jusqu'aux aérosols inhalés par les utilisateurs de CÉ. Pourtant, les mécanismes de relargage de métaux vers les e-liquides et l'exposition potentielle des utilisateurs aux métaux sont encore méconnus.

Afin d'évaluer de façon rigoureuse le processus de relargage de métaux vers les e-liquides, les concentrations de certains métaux ont été mesurées dans les e-liquides avant et après la mise en contact avec les éléments chauffants. Certains facteurs ont été pris en considération, notamment le pH, la concentration de nicotine, la présence d'arômes, la forme moléculaire de la nicotine (base libre ou sels de nicotine), le rapport de la phase organique entre le propylène glycol (PG) et la glycérine végétale (GV) et la composition des éléments chauffants. En outre, une caractérisation préliminaire des risques suite à l'exposition aux métaux contenus dans la phase liquide autant que dans la phase aérosol a été réalisée afin de déterminer si les utilisateurs pouvaient être exposés à des concentrations de métaux supérieures aux valeurs de référence (p. ex., niveau de risque minimal, MRL, etc.) Les métaux ciblés étaient le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le nickel (Ni) et le plomb (Pb) dû à leur toxicité potentielle par inhalation et leur effet cancérogène pour l'homme.

Les métaux cibles ont été quantifiés par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) et les échantillons ont été au préalable traité par digestion acide.

Au début, les teneurs en métaux dans 17 e-liquides, provenant de bouteilles de recharge les plus commercialisées au Canada, ainsi que dans cinq éléments chauffants les plus utilisés (Nichrome 80, Kanthal A-1 et Acier inoxydable 317L de calibre 36 chaque, plus les éléments chauffants jetables de Juul et Aspire BVC) ont été quantifiées. Les résultats démontraient que les concentrations de métaux cibles dans les bouteilles des e-liquides étaient faibles (< 400 µg/kg) ou en dessous des seuils de détection (p. ex. Cd < DL). Par ailleurs, les concentrations de métaux des éléments chauffants (mg/kg), se situaient dans un intervalle égal à Cr = 4.3E+04 – 2.1E+05; Ni = 2.0E+03 – 9.6E+05; Pb = 1.5E-02 – 4.1 et Cd = 0.6 – 32.4.

En mettant l'emphase sur certaines de leurs propriétés, 12 e-liquides ont été sélectionnés pour le test de relargage de métaux avec les cinq éléments chauffants. Ce test a duré trois jours et consistait à mettre en contact chaque élément chauffant avec chaque e-liquide à une température entre 200-250 °C pendant 1 h, selon certains paramètres de vapotage (p. ex., volume d'e-liquide consommé par jour, nombre de bouffées par jour, etc.)

Les résultats ont montré une tendance à la hausse des concentrations de métaux après l'interaction avec les éléments chauffants. De plus, avec le même e-liquide, les concentrations de métaux relargués variaient selon l'élément chauffant. Le Cr et le Ni étaient toujours présents, suivi du Pb, mais dans une moindre mesure alors que le Cd était sous la DL dans la plupart des échantillons. Les mélanges d'élément chauffant + e-liquide avec les concentrations plus élevées de Ni, Cr et Pb, exprimées en moyenne (écart-type), étaient : Aspire BVC + Melon 0 mg/mL: Ni = 1.22E+04(281); Aspire BVC + Hit Nicotine 40 mg/mL: Cr = 864(116); et Nichrome 80 + Melon 0 mg/mL: Pb = 56(5) µg/kg.

Les résultats suggéraient que les sels de nicotine à très forte concentration (40 mg/mL) ont favorisé le relargage du Cr et du Ni lorsque mis en contact avec certains éléments chauffants. Notamment, Hit Nicotine 40 mg/mL avec Aspire BVC qui ont relargué les concentrations les plus élevées de Cr (864(116 µg/kg)) et de Ni (3.39E+03(4.1E+01 µg/kg)) par rapport aux autres sels de nicotine.

Le test non paramétrique de Wilcoxon a montré que les concentrations de Ni relargué étaient significativement différentes ($p < 0.05$) avec Aspire BVC ($p = 0.001$, $n= 11$), Juul ($p = 0.001$, $n= 11$), et Nichrome 80 ($p = 0.007$, $n = 11$) par rapport à l'Acier inoxydable 317L, alors que les

concentrations de Ni relargué par le Kanthal A-1 n'étaient pas significativement différentes de l'Acier inoxydable ($p = 0.1$, $n = 11$). Les résultats ont donc montré que le relargage du Ni diffère entre les éléments chauffants, avec Aspire BVC qui relargue des concentrations supérieures, tandis que des faibles concentrations sont émises par l'Acier inoxydable 317L. Par contre, les concentrations de Cr relargué n'étaient pas significativement différentes par rapport à l'Acier inoxydable 317L.

Enfin, une évaluation de l'exposition aux métaux et une caractérisation préliminaire des risques a été effectuée en utilisant les valeurs de référence par inhalation pour les effets non cancérogènes (p. ex., MRL, PEL, etc.) et en considérant un taux d'absorption de 80 % des métaux, 500 inhalations par jour ainsi qu'un volume journalier d'air inhalé égal à 20 m^3. Dans la phase liquide, les concentrations maximales sûres (CMS) de Cr, de Ni, de Pb et de Cd (mg/mL) ont été établies comme valeurs limites. Les concentrations de métaux dans les bouteilles de recharge se trouvaient toujours en dessous des CMS. Parmi les échantillons de relargage de métaux, Juul et Aspire BVC avec Hit nicotine 40 mg/mL atteignaient une valeur égale ou supérieure à la CMS pour le Cr (III) (7.5E-04 mg/mL). Ceux-ci représentaient 3.5% du total (2 échantillons sur 57). Pour le Ni, 8.8 % (5 échantillons sur 57) dépassaient la CMS_{Ni} pour une exposition intermédiaire (1.5E-03 mg/mL) et 10.5% (6 échantillons sur 57) dépassaient une exposition chronique (6.7E-04 mg/mL). En relation à la phase aérosol, la dose journalière équivalente ($DJÉ_{Maérosol}$) (mg/jour) a été établie pour le Cr, le Ni et le Pb en considérant un pourcentage de passage du métal des échantillons vers l'aérosol (Cr = 15%, Ni= 30% and Pb= 40%). Pour une exposition intermédiaire, 1.8 % (1 échantillon sur 57) dépassait la $DJÉ_{Ni}$ (4.0E-03 mg/jour) et seuls 8.8 % (5 échantillons sur 57) dépassaient la $DJÉ_{Ni}$ pour une exposition chronique (1.8E-03mg/jour).

Des études supplémentaires sur les mécanismes de relargage de métaux produits par les résistances chauffantes sont nécessaires afin d'éventuellement réglementer la fabrication des éléments chauffants des dispositifs de CÉ. En outre, bien que cette étude ait montré que seule une faible proportion des échantillons testés serait problématique pour le Ni et le Cr (les autres métaux ne posant pas de problèmes), une analyse plus approfondie des risques sur la santé suite à l'exposition aux métaux qui passent réellement dans la phase aérosol est recommandée.

ABSTRACT

Smoking is still the main reason for the risk of disability and premature death in Canada. Nowadays, various smoking cessation methods, such as pharmacological treatments and acupuncture, are offered. Unfortunately, these have a low success rate either because they are expensive or not entirely satisfactory, hampering quitting for smokers. Electronic cigarettes (ECs) were introduced in the American market in 2007 as alternative devices to conventional cigarettes.

The traditional cigarette combustion process involves burning tobacco, while ECs generate aerosols obtained from liquids containing nicotine, propylene glycol, vegetable glycerine and flavoring (e-liquids). Today, ECs are well accepted among adults looking to leave the conventional cigarette. However, even though it's accepted that vaping is much less harmful than smoking, there is not enough information available about the potential health risks associated with the long-term use of ECs. It's known that the heating elements of atomizers in e-cigarettes can contribute to the presence of various metal analytes in e-liquids (e.g., nickel, chromium), which reach the aerosols inhaled by EC users. However, the mechanisms for releasing metals into e-liquids and the subsequent human exposure magnitude to metals are still poorly understood.

To rigorously assess the process of releasing metals into e-liquids, metal analyte concentrations were measured in the e-liquids before and after coming into contact with the heating elements. The influence of specific parameters was considered, such as pH, nicotine concentrations, the flavoring role, the molecular form of nicotine (free-base or nicotine salt), the ratio of the organic phase between propylene glycol (PG) and vegetable glycerin (VG) and the composition of the heating elements. In addition, a screening level risk characterization of metals contained in the liquid and the aerosol phases was carried out to determine if the vapers were exposed to concentrations of metals higher than the reference values (e.g., minimal risk levels, MRL, etc.) The target metals were cadmium (Cd), chromium (Cr), nickel (Ni), and lead (Pb) due to their potential toxicity by the inhalation route and their carcinogenic effect in humans. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used to measure metal concentrations after treatment of samples by acid digestion.

The metal content of 17 e-liquids from refill bottles sold in Canada and in five coils widely used among vapers (Nichrome 80, Kanthal A-1, Stainless steel 317L and disposable coils such as Juul and Aspire BVC) was determined. Metal levels expressed as mean (standard deviation) metal

concentration, were below detection (Cd) to very low in bottle samples (Ni ≤ 76(18); Pb ≤ 16(1.5); and Cr ≤ 386(15.6) µg/kg). Regarding metal concentrations in coils (mg/kg), values were in the range of Cr = 4.3E+04 – 2.1E+05, Ni = 2.0E+03 – 9.6E+05, Pb = 1.5E-02 – 4.1 et Cd = 0.6 – 32.4.

Based on their properties, 12 e-liquids were selected for the metal leaching tests with the five heating coils. The metal leaching experiment lasted three days, and it consisted of putting each coil in contact with each e-liquid in a temperature range of 200-250 °C for 1 h, according to certain vaping parameters (e.g., the volume of e-liquid consumed per day, number of inhalations per day, etc.) ICP-MS analysis showed the increasing metal concentrations as a trend due to the interaction with the coils. In addition, it was also observed that using the same e-liquid, the metal leaching concentrations varied depending on the coil. Cr and Ni were constantly present, followed by Pb to a lesser extent. While Cd was below DL for most samples. Coil + e-liquid combinations with the highest concentrations of Ni, Cr, and Pb, expressed as mean (SD), were: Aspire BVC + Melon 0 mg/mL: Ni = 1.22E+04(281); Aspire BVC + Hit Nicotine 40 mg/mL: Cr = 864(116); and Nichrome 80 + Melon 0 mg/mL: Pb = 56(5) µg/kg.

Data from this test reported that nicotine salts at 40 mg/mL may enhance Cr and Ni leaching for some coils. For example, Hit Nicotine 40 mg/mL with Aspire BVC leached the highest concentrations of Cr (864(116 µg/kg)) and Ni (3.39E+03(4.1E+01 µg/kg)). Stainless steel 317L released very low metal concentrations.

The non-parametric Wilcoxon signed rank test showed that leached Ni concentrations were significantly different ($p < 0.05$) between Aspire BVC ($p = 0.001$, $n = 11$), Juul ($p = 0.001$, $n = 11$), and Nichrome 80 ($p = 0.007$, $n = 11$) each compared to stainless steel 317L, except for Kanthal A-1 ($p = 0.1$, $n = 11$). Aspire BVC released the highest Ni concentrations, but the lowest concentrations were released by stainless steel 317L.

Finally, a conservative screening level risk characterization using reference values for inhalation with non-cancer health effects (e.g., MRL, PEL, etc.) and considering 80% absorption of metals, 500 inhalations per day, and a daily volume of inhaled air equal to 20 m^3 was conducted. The safe concentration (SC) of Cr, Ni, Pb, and Cd (mg/mL) were established in the liquid phase as threshold values. All metal concentrations in the refill bottles were always below the SCs. Among the metal leaching samples, Juul and Aspire BVC with Hit nicotine 40mg/mL were equal or above SC for Cr (III) (7.5E-04 mg/mL). They represented only 3.5% of the total (2 out of 57 samples).

For Ni, 8.8% of samples (5 out of 57 samples) exceeded the SCs_{Ni} for intermediate (1.5E-03 mg/mL) and 10.5% of samples (6 out of 57 samples) exceeded SC for chronic exposure (6.7E-04 mg/mL). In the aerosol phase, the estimated daily dose (EDD_{ILV}) (mg/day) was calculated for Cr, Ni, and Pb, to establish limit values assuming a fraction of metals passage from the coil's extracts to the aerosol (Cr = 15%, Ni= 30% and Pb= 40%). For intermediate exposure, only 1.8% of samples (1 out of 57 samples) exceeded EDD_{Ni} (4.0E-03mg/day), and 8.8% of samples (5 out of 57 samples) exceeded EDD_{Ni} for chronic exposure (1.8E-03 mg/day).

Further studies regarding the different mechanism in metal leaching produced by the coils are needed, this could help to set regulations on the manufacturing of such essential parts of EC devices. Moreover, further research is required to carry out a more detailed risk assessment following exposure to metals (particularly Cr and Ni) from e-cigarettes.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS III

RÉSUMÉ IV

ABSTRACT VII

TABLE DES MATIÈRES X

LISTE DES TABLEAUX XIV

LISTE DES FIGURES XV

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS XVII

LISTE DES ANNEXES XXII

CHAPITRE 1 INTRODUCTION 1

1.1 Problématique et contexte de l'étude 1

1.2 Hypothèse de recherche 3

1.3 Objectifs 3

1.4 Publication des résultats 5

1.5 Organisation du mémoire 5

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE 6

2.1 Dispositifs, utilisation et exposition des cigarettes électroniques 6

2.1.1 Fonctionnement de la cigarette électronique 6

2.1.2 Évolution de l'ingénierie des dispositifs de cigarette électronique 7

2.1.3 Topographie de vapotage 11

2.1.4 Rôle de la température dans l'élément chauffant 12

2.2 Composés des liquides et leur potentiel toxique 14

2.2.1 Nicotine, glycérol et propylène glycol 15

2.2.1.1 Propylène glycol 15

2.2.1.2 Glycérine végétale 17

2.2.1.3 Nicotine 19

2.2.2 Arômes 21

2.2.2.1 *Le benzaldéhyde* 25

2.2.2.2 *Le cinnamaldéhyde* 26

2.2.2.3 *Le diacétyle, l'acétylpropionyle et l'acétoïne* 27

2.3. Relargage de métaux dans les dispositifs de la cigarette électronique 30

2.3.1 Présence de métaux dans les e-liquides 31

2.3.2 Relargage de métaux vers l'aérosol 33

2.3.3 Méthodes d'analyse de métaux dans les échantillons de cigarettes électroniques 37

2.3.4 Présence de métaux dans les échantillons biologiques des utilisateurs de la cigarette électronique 38

2.4. Potentiel oxydatif 40

2.4.1. Fluides pulmonaires synthétiques 40

2.4.2. Définition et mécanisme du potentiel oxydatif 41

2.4.3. Potentiel oxydatif généré par l'aérosol de la cigarette électronique 44

2.5. Autres sous-produits générés lors du processus d'aérosolisation dans les cigarettes électroniques 47

2.5.1. *Les matières particulaires (MP)* 47

2.5.2 *Nitrosamines spécifiques au tabac* 49

2.5.3 *Les carbonyles* 51

2.6. Règlementation 53

CHAPITRE 3 ARTICLE 1 – OCCURRENCE OF METALS IN E-CIGARETTE LIQUIDS: INFLUENCE OF COILS ON METAL LEACHING AND EXPOSURE ASSESSMENT 56

3.1 Journal 56

3.2 Title 56

3.3 Autorship 56

3.4 Abstract 56

3.5 Introduction 57

3.6 Materials and methods 59

3.6.1 Cd, Cr, Ni, and Pb concentrations in different e-liquid brands available on the Canadian vaping market 60

3.6.2 Cd, Cr, Ni and Pb levels in coils 61

3.6.3 Vaping patterns 61

3.6.4 Assessment of metal transfer to e-liquids 62

3.6.5 Metal exposure estimation and comparison with threshold values 62

3.6.5.1 Method 1: Calculation of the safe concentration for a metal in e-liquids 63

3.6.5.2 Method 2: Calculation of the equivalent daily dose 64

3.6.6 Quality assurance and quality control 64

3.6.7 Statistical analysis 65

3.7 Results and discussion 65

3.7.1 Metal concentrations in dispenser bottles 65

3.7.2 Cd, Cr, Ni and Pb levels in coils 66

3.7.3 Metal transfer to e-liquid samples 67

3.7.4 Metal exposure estimation and comparison with threshold values 70

3.7.4.1 Safe concentrations of Cd, Cr, Ni and Pb in e-liquids from dispenser bottles and coil extracts 70

3.7.4.2 Metal exposure in EC vapor: metals equivalent daily dose 71

3.8 Study limitations 73

3.9 Conclusions 74

3.10 Acknowledgments 75

CHAPITRE 4 DISCUSSION GÉNÉRALE 76

CHAPITRE 5 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS 84

5.1. Conclusions 84

5.2. Recommandations 86

RÉFÉRENCES 88

ANNEXE 112

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Caractéristiques des appareils des CÉ selon leur génération (Kaur et al., 2018) 11

Tableau 2.2. Dose létale 50 (DL_{50}) du propylène glycol dans les rats, les souris, les cochons d'Inde et les lapins par voie orale (Adapté de LaKind et al. (1999)) 16

Tableau 2.3. Dose létale 50 (DL_{50}) de la glycérine végétale (selon Cosmetic Ingredient Review [CIR] (2015)).....18

Tableau 2.4. Masse estimée des substances chimiques aromatiques dans les cigarettes électroniques (µg/cigarette électronique) (Extrait de Allen et al. (2016)).....28

Tableau 2.5. Concentration de métaux (écart-type) en µg/mg dans les e-liquides (Extrait de Zhao et al. (2020)) 32

Tableau 2.6. Concentration de métaux (médiane [intervalle interquartile]) en µg/kg des échantillons selon la fréquence de remplacement de l'élément chauffant (Extrait de Olmedo et al. (2018)) 35

Tableau 2.7. Concentration de métaux en ng/mL dans le sérum sanguin des non-fumeurs, des fumeurs de cigarette et des vapoteurs (Extrait de Badea et al. (2018)).....38

Tableau 2.8. Concentration des MTR dans le sérum sanguin de non-fumeurs, de fumeurs de cigarette et de vapoteurs en ng/mL (Extrait de Badea et al. (2018)).....39

Tableau 2.9. Émissions de matières particulaires selon leur taille (matière particulaire totale en suspension, MPT, de taille $MP_{10;7;2,5;1}$) au temps zéro (T0), après 1,5 min (T1) et après 3 min (T2) d'usage de CÉ et de la cigarette conventionnelle (Extrait de Pellegrino et al. (2012)) .48

Tableau 2.10. Concentration de nitrosamines spécifiques au tabac retrouvées dans les produits avec nicotine (Extrait de Delrieu et al. (2013)) 50

Table 3.1. Cd, Cr, Ni and Pb concentrations (mg/kg) in study coils.....67

Table 3.2. Safe concentrations (SC)[a] of metals in e-liquids (mg/mL) 70

Table 3.3. Equivalent daily dose (EDD_{ILV})[a] of Cr, Ni and Pb mg/day 72

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Composants de la cigarette électronique (Adapté de Vapo Distri (2019)). 7

Figure 2.2 Exemples de systèmes fermés et ouverts de cigarettes électroniques (Adapté de Eaton et al. (2018)). 8

Figure 2.3 Exemples de clearomiseurs (Extrait de Bollecker (2013)). 9

Figure 2.4 Structure chimique du propylène glycol (Adapté de Vautrot (2016)). 15

Figure 2.5. Structure chimique de la glycérine végétale. (Adapté de Vautrot (2016)). 17

Figure 2.6. Structure chimique de la nicotine (Extrait de Vautrot (2016)). 19

Figure 2.7. Roue des arômes d'e-liquides (Extrait de Krüsemann et al. (2018)). 22

Figure 2.8. Arômes préférés parmi les jeunes au Canada (Extrait de Government of Canada, (2021a)) 23

Figure 2.9. Augmentation du taux de consommation des CÉ chez les jeunes (Extrait de Government of Canada (2021a)). 24

Figure 2.10. Structure moléculaire du diacétyle, de l'acétylpropionyle et de l'acétoïne (Adapté de Farsalinos et al. 2015). 29

Figure 2.11. Surface de la résistance chauffante de Kanthal après (A) 1 cycle de chauffage. (B) 50 cycles de chauffage. Nichrome (C) 1 cycle de chauffage (D) 50 cycles de chauffage avec SEM-EDX (Extrait de Mulder et al. (2020)).....34

Figure 2.12. Parties de l'atomiseur (A) CÉ de modèle réservoir (B) CÉ de modèle mod (Extrait de Williams et al (2019)). 37

Figure 2.13. Mécanisme de réaction de formation d'espèces réactives de l'oxygène (Extrait de Valavanidis et al. (2009)) 42

Figure 2.14. Représentation du processus de stress oxydatif généré par la fumée de tabac (Adapté de Gosselin (2019)). 43

Figure 2.15. Formation d'espèces réactives de l'oxygène à partir de l'oxydation de la glycérine végétale (Extrait de Son et al. (2019)).....45

Figure 2.16. Mécanismes de formation d'espèces réactives de l'oxygène dans l'aérosol des cigarettes électroniques (Extrait de Son et al. (2019)). 46

Figure 2.17. Réactions d'oxydation du propylène glycol et de la glycérine végétale et ses sous-produits générés (Extrait de Ohta et al. (2011)). 51

Figure 3.1. Metal concentration (µg/kg) in dispenser bottles of free-base nicotine e-liquid samples. (See Table S.1 for detailed e-liquid description).....66

Figure 3.2. Metal concentration (µg/kg) in dispenser bottles of nicotine salt e-liquid samples. (See Table S.1 for detailed e-liquid description).....66

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AA	Acide ascorbique
AEMSA	American E-Liquid Manufacturing Standards Association
Ag	Argent
Al	Aluminium
AMP	Acide métaphosphorique
AP	Acétylpropionyle
As	Arsenic
ATSDR	Agency for toxic substances and disease registry
AU	Acide urique
c.-à-d.	C’est-à-dire.
Cd	Cadmium
Ce	Cérium
CÉ	Cigarettes électroniques
CMS	Concentration maximale sûre
CIR	Cosmetic Ingredient Review
CIRC	Centre international de Recherche sur le Cancer
CL_{50}	Concentration létale 50
$C_{max_substance}$	Concentration maximale admissible des substances
Co	Cobalt

CORESTA	Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac
COV	Composés organiques volatils
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DÉH	Dose équivalente chez l'humain
DEL	Diode de lumière
DJÉ	Dose journalière équivalente
DL	Limit de détection
DL_{50}	Dose létale 50
DMENO	Dose minimale avec effet nocif observé
DSENO	Dose sans effet nocif observable
$DTEJ_M$	Dose théorique d'exposition journalière du métal
EPA	Environmental protection agency
Er	Erbium
ÉRO	Espèces réactives de l'oxygène
FDA	Food and Drug Administration
Fe	Fer
FLA	Fluide lysosomal artificiel
FPS	Fluides pulmonaires synthétiques

FSRÉS	Fluide synthétique de revêtement épithélial simulé
GRAS	« Generally Recognized As Safe », généralement considéré comme sûr
GSH	Glutathion
GV	Glycérine végétale, glycérol
He	Hélium
Hg	Mercure
HPLC-MS	Chromatographe en phase liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse
ICP-MS	Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif
ICP-OES	Spectroscopie d’émission atomique à plasma à couplage inductif
IÉN	Inhalateurs électroniques de nicotine
La	Lanthane
LAD	Loi sur les aliments et drogues
LCSPC	Loi canadienne sur la sécurité des produits de consommation
LEA	Limite d’exposition admissible
LER	Limite d'exposition recommandée
LRÉ	Liquides de revêtement épithélial
LTPV	Loi sur le tabac et les produits de vapotage
MM6	Mono Mac 6
Mn	Manganèse

Mo	Molybdène
MP	Matières particulaires
MPOC	Maladie pulmonaire obstructive chronique
MT	Métaux traces
MTR	Métaux des terres rares
N/D	Non-disponible
NAST	Nitrosamines spécifiques au tabac
Ni	Nickel
NNK	4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone
NNN	N’-nitrosonornicotine
MRL	Niveau de risque minimal
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OMS	Organisation mondiale de la Santé
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
P	Puissance
Pb	Plomb
PEL	Limites d'exposition admissibles
PG	Propylène glycol
PO	Potentiel oxydatif

PP	Polypropylène
RCNPV	Règlement sur la concentration en nicotine dans les produits de vapotage
REEPV	Règlement sur l'étiquetage et l'emballage des produits de vapotage
RPE	Résonance paramagnétique électronique
RPPV	Règlement sur la promotion des produits de vapotage
Ru	Ruthénium
Sb	Antimoine
SD	Seuil de détection
Se	Sélénium
SEM-EDX	Balayage microscopie électronique à rayons X à dispersion d'énergie
Sn	Étain
Sr	Strontium
Ti	Titane
TXRF	Spectroscopie de fluorescence X en réflexion totale
V	Volt
Va	Vanadium
VLE	Valeur limitée d'exposition
Zn	Zinc

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A: DÉTERMINATION DU POTENTIAL OXYDATIF DES E-LIQUIDES DE LA CIGARETTE ÉLECTRONIQUE PAR LA MÉTHODE DE DÉPLETION D'ACIDE ASCORBIQUE 112

ANNEXE B: SUPPLEMENTARY MATERIAL 122

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Problématique et contexte de l'étude

Les cigarettes électroniques (CÉ) ont été conçues en 2003 comme des substituts aux cigarettes conventionnelles (Loewenstein & Middlekauff, 2017; Vautrot, 2016). Principalement, les CÉ sont composées d'une batterie, d'un atomiseur où se trouve l'élément chauffant et d'un réservoir (Breland et al., 2017). Depuis leur arrivée sur le marché, les CÉ ont eu plusieurs noms, tels que : inhalateurs électroniques de nicotine (IÉN), vaporisateurs personnels ou électroniques, produits alternatifs de nicotine et appareils électroniques à fumer (Lempert et al., 2016).

Les cigarettes électroniques sont des dispositifs qui fournissent un aérosol, normalement appelé « vapeur », à partir d'un liquide contenant du propylène glycol (PG) et/ou de la glycérine végétale (GV), de la nicotine et des arômes, nommé « e-liquide » (Goniewicz et al., 2014; Grana et al., 2013; Logue et al., 2017). L'aspiration par entraîne le réchauffement d'e-liquide par l'élément chauffant, produisant ainsi l'aérosol inhalé par l'utilisateur, communément appelé « vapoteur » (Flora et al., 2016).

En plus de fournir un apport de nicotine, l'utilisation des CÉ simule de façon psycho comportementale et sensorielle l'action de fumer. La simulation sensorielle produite par les CÉ est appuyée sur la sensation d'inhalation dans la gorge, générée lors de l'inhalation de l'aérosol, et la présence d'arômes (Farsalinos et al., 2015), mais sans la présence de tabac, sa combustion et sa fumée qui sont responsables des effets nocifs pour la santé. Cela rendrait donc les CÉ un choix efficace pour lutter contre le tabagisme. En 2016, le Royal College of Physicians (2016) du Royaume-Uni promouvait largement l'usage des CÉ comme une méthode de remplacement de la cigarette, ainsi que d'autres produits nicotiniques sans tabac aux fins de protéger la santé de fumeurs. Au Canada, le gouvernement encourage de remplacer les cigarettes par les produits de vapotage (IÉN) afin de réduire l'exposition aux substances chimiques nocives (Health Canada, 2020). Grâce à la perception de sûreté du produit, ainsi qu'à la très grande variété d'e-liquides avec ou sans nicotine, l'usage des cigarettes électroniques aujourd'hui est très répandu parmi les anciens fumeurs et parmi une faible proportion de non-fumeurs.

Bien que les vaporisateurs électroniques soient beaucoup moins dommageables que la cigarette traditionnelle, les dernières recherches basées sur l'aspect chimique des CÉ ont montré que les

utilisateurs peuvent être exposés à des carbonylés, des aldéhydes, des matières particulaires (MP), des métaux traces, des composés organiques volatils (COV), des endotoxines, des produits chimiques aromatisant et d'autres additifs dans les e-liquides et/ou les aérosols générés (Allen et al., 2016; Bekki et al., 2014; Cheng, 2014; Farsalinos et al., 2015; Fernández et al., 2015; Geiss et al., 2015; Goniewicz et al., 2014; Hess et al., 2017; Hutzler et al., 2014; Liu et al., 2020; Zhao et al., 2019). Cependant, les niveaux mesurés de ces substances se retrouvent en faible concentration par rapport à leur présence dans la fumée de la cigarette conventionnelle (Beauval et al., 2017; Logue et al., 2017; Pellegrino et al., 2012).

La présence de métaux dans les particules des aérosols peut provenir des e-liquides contaminés lors de leur fabrication et/ou des autres pièces métalliques dans les atomiseurs de CÉ (Williams et al., 2019; Zervas et al., 2020). Plusieurs études indiquent l'élément chauffant comme la principale source de relargage de métaux (Arnold, 2018; Olmedo et al., 2018; Saffari et al., 2014; Zhao et al., 2020). Dans le cadre du relargage de métaux provenant des CÉ, divers facteurs ont été étudiés tels que la composition des éléments chauffants, le voltage appliqué dans le dispositif, la température de chauffage de l'e-liquide, le flux d'air ou encore l'âge du dispositif. Pourtant, des recherches additionnelles sont requises, car l'explication de l'impact de ces paramètres dans le processus de relargage reste encore insuffisante.

Malgré l'abondance de littérature qui prouve l'existence de métaux traces dans les e-liquides et dans les aérosols générés par les CÉ, la majorité des études qui abordent ce sujet se concentrent à quantifier la concentration de métaux traces avant et après le réchauffement des e-liquides par la résistance (Colijn & Mikheev, 2018; Palazzolo et al., 2017; Pappas et al., 2020), suite à la mention des effets nocifs potentiels sur la santé causée par une exposition aux métaux. Néanmoins, la caractérisation du risque lié aux métaux trouvés dans les liquides de vapotage et les aérosols est rarement effectuée.

Dans ce projet, la caractérisation du risque sera appliquée comme un outil pour déterminer de façon théorique le risque potentiel des substances présentes dans les échantillons à l'étude. Ce calcul sera estimé à partir des valeurs de concentration du contaminant mesurées dans les e-liquides, en considérant un scénario pessimiste (Poulsen et al., 2017) ou bien le calcul sera effectué en utilisant directement la concentration déterminée dans l'aérosol (Flora et al., 2016). Cette approche utilise les limites d'exposition par inhalation disponibles pour les métaux dans la littérature, et un scénario

réaliste d'utilisation de la CÉ (et donc d'exposition théorique journalière aux métaux contenus dans les e-liquides). Les résultats de l'analyse du risque permettront d'établir quelles combinaisons élément chauffant/liquide pourraient atteindre des niveaux de relargage de métaux qui auront dépassé l'exposition journalière aux limites permises pour le Cd, le Ni, le Cr et le Pb, et qui pourrait nuire à la santé des vapoteurs.

Vu que les diamètres des particules d'aérosols de CÉ se trouvent entre 280-1420 nm, ce qui fait partie de la fraction respirable dans les voies respiratoires (Alderman et al., 2015), il est probable que les aérosols de CÉ ($d < MP_{0.1}$) atteignent des régions profondes dans les poumons. Quelques études récentes ont montré que les aérosols des CÉ seraient capables de produire des espèces réactives de l'oxygène (ÉRO) lors de leur interaction avec les fluides pulmonaires (Lerner et al., 2016; Son et al., 2019). Ce fait pourrait être une conséquence de la présence de métaux associés aux particules d'aérosols de CÉ, puisque ceux-ci seraient possiblement bioaccessibles dans les fluides pulmonaires (Godri et al., 2010; Gosselin & Zagury, 2020).

Le potentiel oxydatif (PO) est un paramètre qui mesure la capacité d'une substance de générer des ÉRO à travers une diminution de l'acide ascorbique (AA), l'antioxydant le plus abondant dans les fluides pulmonaires (Pietrogrande et al., 2019; Shahpoury et al., 2019). L'introduction d'ÉRO conduirait à un déséquilibre redox associé à une réaction inflammatoire locale, laquelle est associée aux différents types de maladies pulmonaires obstructives chroniques (MPOC) (Rahman & Adcock, 2006), l'asthme (Delfino et al., 2013; Fitzpatrick et al., 2009), l'athérosclérose (Ying et al., 2009).

1.2 Hypothèse de recherche

Les niveaux de relargage de métaux diffèrent entre les éléments chauffants et ils sont influencés par les caractéristiques des e-liquides avec lesquels ils sont mis en contact.

1.3 Objectifs

Les principaux objectifs sont les suivants :

- Déterminer les teneurs en métaux (Cd, Cr, Ni et Pb) de différents types d'e-liquides et éléments chauffants disponibles sur le marché du vapotage au Canada.

- Évaluer l'influence de la composition chimique des e-liquides sur le relargage des métaux à partir de divers types des éléments chauffants de CÉ.
- Estimer l'exposition aux métaux par inhalation chez les utilisateurs de CÉ et caractériser le risque.
- Analyser les résultats et recommander, s'il y a lieu, certains éléments chauffants de manière à réduire le relargage des métaux et les risques potentiels sur la santé des utilisateurs.
- Enfin, proposer un protocole préliminaire pour évaluer le PO des métaux relargués dans les e-liquides qui pourra être utiliser dans des travaux ultérieurs.

En vue de parvenir à ces objectifs principaux, des objectifs plus spécifiques ont été fixés :

- Quantifier par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) la concentration de Cd, de Cr, de Ni et de Pb dans les éléments chauffants des atomiseurs (cinq types d'éléments chauffants).
- Quantifier par ICP-MS les concentrations de Cd, de Cr, de Ni et de Pb dans les bouteilles des e-liquides de recharge, ainsi que dans les e-liquides restants après la mise en contact avec cinq types d'éléments chauffants trouvés dans les atomiseurs de CÉ sous les conditions de vaporisation.
- Déterminer certaines propriétés physico-chimiques des e-liquides de recharge tels que le pH et leurs densités.
- Calculer l'exposition aux métaux déterminés dans la phase liquide en supposant 80 % d'absorption de métaux et comparer avec les limites d'exposition.
- Calculer l'exposition aux métaux retrouvés dans les aérosols en utilisant les corrélations existantes entre la concentration dans les e-liquides et celle dans les aérosols selon la littérature scientifique récente.
- En fonction de l'ampleur du projet, élaborer un protocole expérimental et quantifier le PO dans les e-liquides après avoir été mis en contact avec les atomiseurs, en mesurant la déplétion de l'AA par HPLC-MS.

1.4 Publication des résultats

Les résultats récoltés dans le cadre de la présente recherche ont été soumis au journal *Heliyon* sous la forme d'un article scientifique.

Alcantara, C. Chaparro, L. & Zagury, G.J. (2022). *Occurrence of metals in e-cigarette liquids: Influence of coils on metal leaching and exposure assessment.*

1.5 Organisation du mémoire

Le présent mémoire est divisé en 5 sections. Le contexte du projet de recherche et les principaux objectifs sont présentés au premier chapitre. Le deuxième chapitre est dédié à une revue approfondie de la littérature. La troisième partie contient l'article soumis au journal *Environmental Research* intitulé « *Occurrence of metals in e-cigarette liquids: Influence of coils on metal leaching and exposure assessment* ». Puis, la section suivante contient la discussion générale des résultats et finalement, la dernière section est consacrée aux principales conclusions et aux recommandations pour la poursuite des travaux. Le mémoire ne comporte pas d'une section dévouée à la description du matériel et des méthodes utilisées lors du déroulement des travaux de laboratoire. Néanmoins, ces informations, y compris les références pertinentes, sont exposées dans la section nommée « *Materials and methods* » de l'article précédemment mentionné. De plus, l'annexe A contient un protocole préliminaire pour évaluer le potentiel oxydatif des métaux relargués dans les e-liquides qui pourra être utiliser dans des travaux ultérieurs.

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Dispositifs, utilisation et exposition des cigarettes électroniques

2.1.1 Fonctionnement de la cigarette électronique

Bien que le marché de vapotage offre une diversité de modèles de CÉ, le mécanisme de fonctionnement reste similaire parmi ces dispositifs.

1. D'abord, l'utilisateur prend la CÉ et aspire à travers de l'embout. Selon le modèle de CÉ, il y aura une légère variation au moment d'allumer le dispositif. Dans les modèles de deuxième et troisième génération, l'utilisateur appuie sur un bouton sur le dispositif de la CÉ, ce qui envoie un flux d'énergie de la batterie vers l'élément chauffant métallique, qui est ensuite chauffé. Cependant, dans les modèles de première génération, le fait d'aspirer crée un débit d'air, lequel donne la place aux changements de pression qui sont détectés par un capteur, en déclenchant le lancement d'un flux de puissance de la batterie vers une diode de lumière (DEL) et l'élément chauffant. Le DEL s'allume pendant que l'élément est chauffé. Les différences parmi les modèles des CÉ seront présentées dans la sous-section 2.1.2
2. Par capillarité, la mèche dans l'atomiseur devient saturée d'e-liquide, qui est ensuite aérosolisée lors du chauffage de l'élément chauffant, en produisant des gouttes. Cette étape est appelée « vaporisation » par les utilisateurs.
3. Enfin, les gouttes d'e-liquide en aérosol sont inhalées par les poumons tandis que quelques-unes s'écoulent dans la bouche de l'utilisateur (Brown & Cheng, 2014).

Bien que le fonctionnement de la CÉ soit normalement associé avec la « vaporisation » de l'e-liquide, techniquement ce terme n'est pas tout à fait approprié, car le dispositif émet un aérosol composé d'un mélange de gaz, de vapeur et de particules d'eau qui est inhalé par l'utilisateur et non une substance en phase gazeuse (vapeur) (Eaton et al., 2018).

L'exposition des utilisateurs aux substances émises lors de l'utilisation des CÉ dépendra de la topographie de vapotage, la présence et la concentration de substances et la zone des voies respiratoires où l'aérosol aboutit.

2.1.2 Évolution de l'ingénierie des dispositifs de cigarette électronique

Suite à leur introduction dans le marché, les modèles de dispositifs de CÉ n'ont pas cessé de changer. Chacun d'eux offre des fonctionnalités particulières, en gardant la même structure de base : un réservoir, c'est-à-dire le compartiment qui contient l'e-liquide, un atomiseur, une batterie et un embout (Figure 2.1) (Vapo Distri, 2019). Aujourd'hui, les dispositifs de CÉ sont groupés en deux catégories distinctes : les systèmes fermés et les systèmes ouverts (Chen et al., 2016).

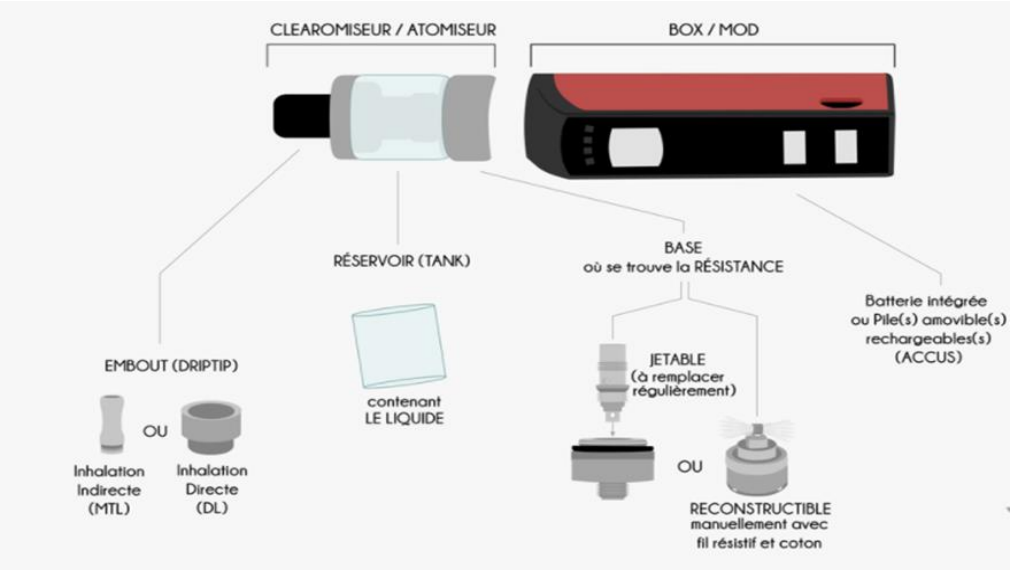

Figure 2.1 Composants de la cigarette électronique (Adapté de Vapo Distri (2019)).

Le « cigalike » représente les modèles de première génération (Figure 2.2) qui font partie des systèmes fermés. Le cigalike ressemble aux cigarettes classiques en apparence et en taille. Dans la plupart des cas, ces modèles sont jetables, mais quelques-uns sont rechargeables (cartouches préremplies avec de l'e-liquide pour les reconnecter à la batterie du dispositif). Les CÉ de première génération sont de basse qualité, utilisent une faible valeur de tension (volt, V), ce qui affecte leur production d'aérosol, et la dose de nicotine fournie est aussi faible par rapport aux appareils de dernière génération (Kaur et al., 2018; Royal college of physicians, 2016; Vautrot, 2016). Il est

donc commun que les utilisateurs passent rapidement aux modèles plus modernes, de préférence ceux de deuxième génération.

Les CÉ à système ouvert offrent la particularité d'être ajustables, c'est-à-dire que certaines caractéristiques peuvent être réglées pour mieux s'adapter aux préférences des utilisateurs, comme l'élément chauffant, la valeur de tension, la température, le débit d'air. (Chen et al., 2016; Chun et al., 2017). En outre, les modèles dans cette catégorie permettent aux utilisateurs de les remplir avec des e-liquides de leur choix. Les modèles de deuxième et troisième génération de CÉ se trouvent dans la catégorie de systèmes ouverts, voir Figure 2.2.

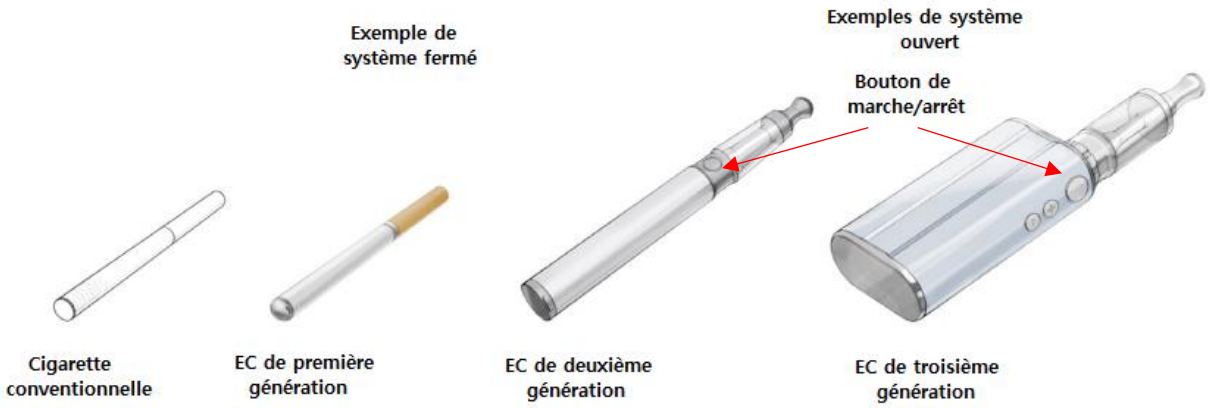

Figure 2.2 Exemples de systèmes fermés et ouverts de cigarettes électroniques (Adapté de Eaton et al. (2018)).

Les modèles de deuxième génération sont les plus commercialisés et ils sont disponibles par différentes marques de CÉ. Ils possèdent une forme cylindrique et sont plus grands par rapport aux cigalike. Dans leur structure, les modèles de deuxième génération détiennent un « clearomiseur » (Figure 2.3), composé des éléments suivants :

- ✓ Le réservoir qui contient l'e-liquide a la capacité de conserver un volume important d'e-liquide (environ 1 à 6 mL) en comparaison avec la cartouche du modèle précédent (Vautrot, 2016). Ce compartiment est transparent et jaugé.
- ✓ L'élément chauffant métallique, aussi nommé « résistance », est entouré d'une mèche faite de fibre de verre ou de silice (Williams et al., 2019). Avant d'initier le processus de vaporisation, les mèches doivent être imbibées d'e-liquide afin d'éviter le phénomène de

bouffée sèche. La bouffée sèche survient lorsque l'élément chauffant est chauffé avec un volume faible d'e-liquide, donc le taux d'évaporation est supérieur à l'apport d'e-liquide, engendrant une saveur désagréable et brûlante (Farsalinos et al., 2013). Parmi les éléments chauffants les plus vendus se trouvent le Kanthal et le Nichrome (Farsalinos et al., 2015). La valeur de résistance de ces fils chauffants peut varier selon le modèle de CÉ, mais se trouve en général entre 1.5 et 2.8 ohms (Vautrot, 2016). Cette pièce est remplaçable et sa vie utile est normalement de 7 à 14 jours (Brown, 2019).

- ✓ À l'intérieur du clearomiseur se trouve un tube placé au milieu et une base placée en dessous. La base relie le clearomiseur à la pile, tandis que le tube agit comme cheminée pour que l'aérosol puisse se rendre jusqu'à l'embout du dispositif.

Figure 2.3 Exemples de clearomiseurs (Extrait de Bollecker (2013)).

Les « mods » sont les modèles de troisième génération qui n'ont aucune ressemblance aux cigarettes à cause de leur forme rectangulaire et leurs grandes dimensions. Les mods se caractérisent par leur capacité d'être programmables, car des paramètres tels que le voltage et la puissance (« wattage ») peuvent être personnalisés pour mieux combler les besoins des utilisateurs, suivant toujours la loi d'ohm (eq. 1) (Chun et al., 2017).

$$P\ (watts) = \frac{V^2(volts)}{\Omega\ (ohm)} \qquad (1)$$

Où

P : Puissance (watts)

V^2 : Voltage au carré (volts^2)

Ω : Résistance (ohms)

Si un utilisateur opte pour une valeur définie de puissance, le microprocesseur dans le mod adaptera le voltage selon l'élément chauffant installé. Également, les valeurs de résistance (ohm, Ω) des fils chauffants sont personnalisables. Les dispositifs de troisième génération emploient de fils chauffants avec des valeurs de résistance $\leq 1\ \Omega$; ces valeurs de résistance se situent dans la catégorie de « sub-ohm » (Eaton et al., 2018). En utilisant des calculatrices de vapotage, les vapoteurs peuvent manuellement assembler des fils chauffants avec les valeurs de résistance désirées. Dû à ces attributs, les mods sont aussi connus comme « modèles reconstructibles » ou « modèles de wattage variable » (Vautrot, 2016).

Les piles utilisées dans les mods reçoivent le nom d'« accus » (pour accumulateurs), car elles sont des grosses piles rechargeables et extrêmement puissantes (6-8 V) (Kaur et al., 2018)). Étant donné que les mods utilisent une tension élevée et une faible résistance, cela leur permet de produire un aérosol plus dense et plus abondant, avec un apport de nicotine plus élevé, ainsi que la sensation d'inhalation dans la gorge, laquelle est produite quand l'aérosol atteint la gorge, qui sera plus intense (Vautrot, 2016). Par ailleurs, vu que la température de chauffage sera élevée, il y aura une consommation considérable d'e-liquide. Ce type de dispositif est normalement utilisé par les vapoteurs expérimentés qui gèrent bien la loi d'ohm et sont capables d'éviter le phénomène de bouffée sèche.

Il est aussi important de mentionner quelques détails à propos des piles des CÉ. Les piles au lithium sont employées dans de nombreux dispositifs de CÉ, puisqu'elles offrent une majeure puissance et une charge de longue durée. Cependant, ces piles ont une sensibilité envers les températures internes élevées, provoquant un risque d'explosion (Loewenstein & Middlekauff, 2017). Cette condition est appelée « emballement thermique » et elle s'accroît lorsque les piles au lithium sont fabriquées avec des matériaux de mauvaise qualité, lorsqu'elles contiennent des défauts de fabrication et lorsqu'elles sont soumises à un usage inapproprié (Brown & Cheng, 2014; Loewenstein & Middlekauff, 2017). Les mécanismes de décharge de surpression interne, de

coupures de courant et l'utilisation de circuits de protection contre les surcharges aident à prévenir et contrôler l'emballement thermique (Ballard, 1983). Le tableau 2.1 montre de manière concise les caractéristiques des modèles de CÉ.

Tableau 2.1 Caractéristiques des appareils des CÉ selon leur génération (Kaur et al., 2018)

Caractéristiques	1ère génération	2e génération	3e génération	Observation
Type de système	Fermé	Ouvert	Ouvert	Les systèmes ouverts ont un clearomiseur rechargeable. Les systèmes fermés sont préremplis avec de l'e-liquide et fixés à la pile. Aujourd'hui, ces appareils sont de plus grandes dimensions et permettent de contrôler les paramètres de vapotage.
Modèle	Cigalike	Réservoir	Mod	
Cartouche	Non rechargeable	Rechargeable	Rechargeable	
Tension (V)	3.7 – 4.2 V	3.7 – 6 V	6 – 8 V	Les valeurs élevées de tension peuvent intensifier la libération de composés potentiellement toxiques.
Type de pile	Pile en acier	Pile aux ions lithium	[1]ICR lithium-ion [1.1]IMR lithium-ion	

2.1.3 Topographie de vapotage

Il est important de considérer la topographie de vapotage lors de l'étude des CÉ. Parmi les paramètres, notons la durée de la bouffée, le volume de bouffée, la fréquence de bouffée, le nombre de bouffées, l'état de la pile, l'âge de l'élément chauffant, le réglage de la tension affectant la

[1] ICR: Cathode $LiCoO_2$, [1.1]IMR: Cathode $LiMn_2O_4$

livraison d'aérosol, l'apport de nicotine, ainsi que la génération de substances potentiellement dangereuses dans l'aérosol de la CÉ (Behar et al., 2015; CORESTA, 2018).

Il a été observé que la durée de la bouffée est deux fois plus longue chez les utilisateurs de CÉ par rapport aux fumeurs de cigarettes conventionnelles (Farsalinos et al., 2013; Norton et al., 2014; Spindle et al., 2015; Strasser et al., 2016). Ceci pourrait être lié au mécanisme de fonctionnement du dispositif, dû au fait qu'il y a un délai entre le temps de l'activation de la CÉ et le début de l'évaporation. Puisque la CÉ se retrouve initialement à température ambiante, la génération de son aérosol implique une série d'étapes (détaillées dans la section 2.1.1); en revanche, la cigarette conventionnelle reste toujours à une température constante.

La bouffée de longue durée et la valeur de tension influencent l'apport de nicotine. Quand une bouffée commence, l'élément chauffant est activé et sa température augmente jusqu'à atteindre une valeur constante de température; à ce moment-là, le voltage absorbé est en équilibre avec l'énergie thermique transférée par l'élément chauffant (état d'équilibre) (Talih et al., 2015). Une bouffée de longue durée donne donc le temps à l'élément chauffant d'atteindre l'état d'équilibre où la température est relativement élevée, ce qui entraîne un taux d'évaporation plus élevé de nicotine (Talih et al. 2015).

Un autre facteur important dans la topographie de vapotage est la concentration de nicotine. Lorsque la concentration de nicotine est élevée, le nombre de bouffées et la durée des bouffées diminuent, afin de maintenir l'apport de nicotine requis pour satisfaire l'inconfort de sevrage. Cette action est aussi connue titration autonome (Dawkins et al., 2016; Lopez et al., 2016).

Enfin, il est important de mentionner que la topographie de vapotage est distincte parmi les utilisateurs débutants et les utilisateurs expérimentés. La durée de la bouffée a tendance d'être longue pour les utilisateurs expérimentés (intervalle moyen de temps de 1.8 à 5.29 secondes) par rapport aux utilisateurs débutants (intervalle moyen de temps de 1.64 à 3.0 secondes) (Eaton et al., 2018). Cette différence s'estompe avec le temps, jusqu'à ce que l'utilisateur novice s'habitue à l'utilisation de la CÉ.

2.1.4 Rôle de la température dans l'élément chauffant

La température dissipée par l'élément chauffant n'affectera pas seulement la présence des composés chimiques et leur concentration dans l'aérosol, mais aussi l'évaluation sensorielle perçue

par les vapoteurs. Une température optimale de vaporisation pour les CÉ tombe dans l'intervalle de 160 °C à 250 °C (Cui et al., 2017). Cependant, certains facteurs tels que la valeur de tension appliquée, la composition de l'e-liquide, le niveau de remplissage de l'e-liquide, le matériel de l'élément chauffant et la topographie de vapotage empêchent d'atteindre la bonne température (Chen et al., 2018), ce qui perturberait la production d'une aérosol « agréable ».

En relation à la composition d'e-liquide, ceci est plutôt relié au rapport PG:GV de la phase organique, lequel est variable dans les formulations des e-liquides. Mulder et al. (2020) ont démontré que lors d'un période de chauffage de 8 min, l'élément chauffant en Kanthal a dissipé des températures supérieures dans un milieu 100 % PG en comparaison avec un milieu 100 % GV ou 50:50 PG:GV tandis que le voltage était augmenté. Le PG est moins visqueux que la GV, donc la viscosité du milieu interviendra dans la capacité de l'élément chauffant de propager et de dissiper la chaleur. Également, il est probable que les consommateurs des e-liquides à 100 % PG pourraient avoir un risque majeur de bouffée sèche étant donné qu'une température élevée de vaporisation entraînera une consommation plus rapide d'e-liquide.

Le phénomène de bouffée sèche se produit quand le volume d'e-liquide qui arrive à la mèche est trop faible par rapport au voltage livré par la pile, alors l'élément chauffant dissipera une valeur importante de température en vaporisant l'e-liquide plus vite que son absorption par la mèche. Lorsque le volume d'e-liquide est insuffisant, l'élément chauffant peut facilement atteindre des températures élevées; celles-ci dépasseraient facilement 1 000 °C en condition sèche (Mulder et al., 2020; Schripp et al., 2013). Des études ont démontré une augmentation remarquable dans la concentration de carbonyles lors des bouffées sèches (Farsalinos et al., 2017). Afin d'éviter ce phénomène, il faut porter une attention spéciale au volume d'e-liquide ainsi qu'au voltage, puisqu'une valeur de tension plus élevée causera le fil chauffant à atteindre un niveau de température plus élevé et par conséquent la consommation rapide du volume d'e-liquide et le risque d'une concentration importante de carbonyles. Un volume constant de remplissage d'e-liquide égal à 2/3 du volume total du réservoir permet à la mèche de rester imbibée; cette condition est aussi appelée « mèche humide » (Chen et al., 2018). Un volume supérieur aux deux tiers n'est pas conseillé parce qu'il y a des risques d'écoulement d'e-liquide à travers l'embout. Farsalinos et al. (2015) ont essayé d'établir la valeur de tension qui cause la bouffée sèche, mais malheureusement les nombreux modèles de CÉ et leurs différentes capacités à gérer un niveau de puissance élevé

rendent l'exercice difficile. La valeur de tension de la bouffée sèche est variable selon le modèle de la CÉ, et elle peut seulement être reconnue par l'utilisateur lors de l'utilisation du dispositif.

Afin d'arriver à une température de vaporisation optimale et d'éviter la bouffée sèche, il est conseillé de suivre les indications du fabricant du dispositif en ce qui concerne les paramètres de vaporisation (tels que le volume d'e-liquide à remplir et la valeur de tension à appliquer).

2.2 Composés des liquides et leur potentiel toxique

Les e-liquides sont principalement constitués de PG et de GV, mélangés avec des arômes et de façon facultative avec une quantité variable de nicotine. Certaines études ont aussi identifié de l'eau dans quelques formulations d'e-liquides (Kosmider et al., 2014; Poulsen et al., 2017; Vautrot, 2016). Bien que le rapport PG:GV soit fluctuant, celui-ci représente entre 70-80 % de la composition totale des e-liquides (Kosmider et al., 2014). L'American E-Liquid Manufacturing Standards Association (AEMSA (2017)) exige que les substances utilisées lors de la production des e-liquides doivent être de grade USP (US Pharmacopoeia) certifié pour le PG et la GV, que les arômes doivent être de grade alimentaire et faire partie de la liste de substances généralement considérées comme sûres (« Generally Recognized As Safe », GRAS) par le bureau de la Food and Drug Administration (FDA) (Barrington-Trimis et al., 2014) et que la nicotine ait un grade de pureté égale ou supérieure à 99 % afin de fournir un produit de qualité et sécuritaire aux utilisateurs.

Il a été déjà mentionné que l'aérosol produit à partir de l'aérosolisation de ces substances est considéré comme étant beaucoup moins nocif que la fumée de la cigarette conventionnelle puisqu'il n'y a pas de combustion du tabac (Health Canada, 2012; Hutzler et al., 2014; Sassano et al., 2018). Néanmoins, certaines études ont mis en évidence la formation de sous-produits potentiellement dangereux dérivés des matières premières des e-liquides lors du processus d'aérosolisation (Chen, 2012; Herrington & Myers, 2015).

La toxicité de la fumée de cigarette du tabac a été bien étudiée; il est donc connu que les feuilles de tabac possèdent environ 2 000 substances chimiques, ce nombre étant doublé pendant l'action de fumer (IOM, 2001). Cependant, les CÉ sont des produits récents, raison pour laquelle les études sur les aérosols des CÉ sont encore limitées. La sous-section suivante présente une revue des données toxicologiques courantes en relation aux substances chimiques présentes et générées dans le liquide autant que dans l'aérosol.

2.2.1 Nicotine, glycérol et propylène glycol

2.2.1.1 Propylène glycol

Le PG est aussi nommé 1,2-dihydroxypropane avec la formule chimique de CH_3-CHOH-CH_2OH (Figure 2.2.1.1) et sa masse molaire est de 76.1 g/mol avec un point d'ébullition de 188 °C. Le PG est un liquide incolore, inodore et peu visqueux (Vautrot, 2016).

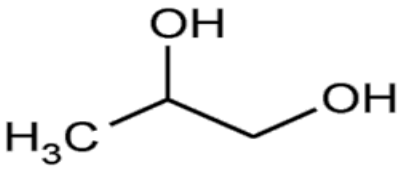

Figure 2.4 Structure chimique du propylène glycol (Adapté de Vautrot (2016)).

Il est hygroscopique et soluble dans l'eau et dans plusieurs solvants organiques, sauf des hydrocarbures, et son usage est extrêmement étendu comme solvant pour les colorants et les arômes alimentaires ainsi que pour la fabrication de médicaments (Vautrot, 2016). Ce composé se trouve dans la liste de substances GRAS de la FDA (Food & Drug Research, 1973). Ceci réaffirme son caractère de substance inoffensive pour l'ingestion, mais cela n'est encore pas vérifié pour l'inhalation. Le PG est absorbé par voie orale ou cutanée et par la membrane muqueuse. Après son absorption, le PG s'oxyde dans le foie par des déshydrogénases en acide lactique puis est métabolisé en acide pyruvique, lequel est utilisé comme source d'énergie dans l'organisme. Son élimination est principalement par la voie urinaire, soit comme glucurono-conjuguée ou soit comme PG jusqu'à 45 %. Au niveau du sang, le PG a une demi-vie d'élimination de 2 h, tandis qu'au niveau de l'organisme, c'est de 4 h (Vautrot, 2016). Les études toxicologiques sur des animaux (expériences in vivo) ont montré que le PG est peu toxique avec une dose sans effet nocif observable (DSENO) par voie orale égale à 1 700 mg/kg/j pour les rats et 2 100 mg/kg/j pour les chiens. Parmi les effets nocifs observés pour des doses supérieures à la DSENO, l'on voit des modifications hématologiques légères telles que la formation de corps de Heinz (formation de la précipitation des molécules d'hémoglobine). La dose létale 50 (DL_{50}) se trouve entre 18 et 33 g/kg (Tableau 2.2) avec des effets néfastes sur le système nerveux central, avant de tomber en coma

suivi de la mort (LaKind et al., 1999). Également, les études ont montré que le PG n'est tératogène ni cancérogène, et n'a pas d'effet sur la reproduction ni sur la fertilité (Food & Drug Research, 1973).

Tableau 2.2. Dose létale 50 (DL_{50}) du propylène glycol dans les rats, les souris, les cochons d'Inde et les lapins par voie orale (Adapté de LaKind et al. (1999))

Espèce	Propylène glycol DL_{50} (g/kg)	Référence
Rats	21.7	Laug et al. (1939); Smyth (1941); Weatherby et Haag (1938)
	26.4	
	33.5	
Souris	24.8	Bornmann (1954); Laug et al. (1939)
	31.9	
Cochons d'Inde	18.35	Laug et al. (1939); Smyth (1941)
	19.6	
Lapins	19.3	Weatherby et Haag (1938)

Chez les humains, il existe la possibilité que certains individus développent une réaction allergique au PG lors d'une exposition répétée par la voie cutanée (Lessmann et al., 2005; Warshaw et al., 2009). Au niveau professionnel, l'organisme américain Occupational Safety and Health Administration (OSHA) établit une valeur d'exposition de 10 mg/m^3 pour toutes les brumes organiques lors d'une exposition de 8 h, ce qui est applicable au PG et à la GV (Eaton et al., 2018).

Dans les e-liquides, le PG et la GV jouent le rôle de solvants, et sont aussi appelés « véhiculants » d'arômes. Selon les vapoteurs, le PG simule mieux la sensation d'inhalation dans la gorge, est un exhausteur de goût – mettant l'accent sur les arômes par rapport au glycérol – et permet également un meilleur transport de la nicotine lorsque celle-ci se trouve dans la formulation (Etter, 2016; Li et al., 2016). L'inhalation du PG aérosolisée peut affecter le risque de développer de l'asthme (Choi

et al., 2010). Dans le contexte de l'usage des CÉ, les effets potentiels du PG sur la santé sont liés aux concentrations et aux doses de PG inhalées durant la bouffée. En supposant une consommation extrême d'e-liquide par jour (de 5 à 25 mL/jour où la concentration de PG représente entre 50 et 95 % de la composition d'e-liquide), Burstyn (2014) faisait une estimation de l'exposition de PG par la voie d'inhalation, en considérant 100 % d'absorption. Il a conclu que les niveaux de PG inhalé ont atteint 1 à 6 mg/m^3, où la valeur maximale est proche de la valeur limite du PG, égale à 10 mg/m^3 pour 8 h d'exposition. Ce fait justifie des inquiétudes, cependant l'auteur a mentionné que considérer 100 % d'absorption n'était pas réaliste puisque lors du vapotage typique, seule une faible partie de l'aérosol est expiré par le vapoteur. Finalement, dans les forums de vapotage, les utilisateurs se sont plaints d'irritation des yeux et de la gorge causée par une exposition aigüe au PG.

2.2.1.2 Glycérine végétale

La GV, aussi connue sous le nom de glycérol, possède la dénomination chimique de 1,2,3-propantriol avec la formule chimique CH_2OH-$CHOH$-CH_2OH (Figure 2.5). Elle est aussi un composé hygroscopique; sa masse molaire est de 92.1 g/mol avec un point d'ébullition égal à 290 °C et grâce à la présence des fonctions hydroxyles, la GV est soluble dans l'eau et l'éthanol, sauf le chloroforme (Vautrot, 2016).

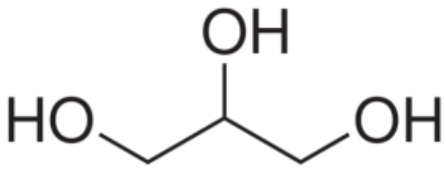

Figure 2.5. Structure chimique de la glycérine végétale. (Adapté de Vautrot (2016)).

La GV est un liquide plus visqueux que le PG dérivé des huiles et graisses de façon naturelle, ainsi que des produits pétrochimiques de façon synthétique. La GV est aussi présente dans plusieurs domaines de l'industrie tels que les produits de beauté comme solvant et hydratant et dans la production du savon. Dans l'industrie des aliments, la GV est un additif alimentaire (E422) ainsi qu'un émulsifiant (Vautrot, 2016). La FDA reconnaît à la GV la désignation de substance GRAS.

Par voie orale, la GV est absorbée par l'estomac et les intestins (Becker et al., 2019). Une partie de la GV est phosphorylée au niveau du foie (80-90 %) et le restant au niveau des reins (10-20 %) pour devenir α-glycérophosphate et être incorporée dans la synthèse du glucose et du glycogène (Lim & Shin, 2017). Également, la GV peut participer dans la lipogenèse en générant des acides gras et/ou triglycérides ensuite distribués au niveau du tissu adipeux. La demi-vie de la GV est de 2.5 h où entre 7 et 14 % sont éliminés sous sa forme inchangée par l'urine (Eaton et al., 2018). Selon les études in vivo, la GV a une faible toxicité soit par ingestion, inhalation ou contact cutané. Les valeurs de DSENO par voie orale sont de 500 mg/kg pour les cochons d'Inde et 15 g/kg pour les rats (Gad et al., 2006). En relation aux humains, la DSENO est égale à 2.2 g/kg/jour et 165 mg/m^3 par inhalation (Cosmetic ingredient review (CIR), 2014; Tourtellotte et al., 1972). L'ingestion de fortes doses de GV cause l'hyperhémie du tractus gastro-intestinal, des vomissements, des diarrhées ainsi que des douleurs abdominales et céphalées (Vautrot, 2016). Lors d'une exposition aigüe (< 1 mois), une irritation des voies respiratoires est produite. La DL_{50} par ingestion se trouve entre 2.53 et 77.5 g/kg (Tableau 2.3). De plus, ces études ont montré que la GV n'est ni cancérigène ni tératogène, et n'a pas d'effet sur la reproduction ni sur la fertilité. Cependant, selon Vautrot (2016), elle est capable de traverser le placenta chez l'humain.

Tableau 2.3. Dose létale 50 (DL_{50}) de la glycérine végétale (selon Cosmetic Ingredient Review [CIR] (2015)).

Voie	Espèce	Glycérine végétale DL_{50} (g/kg)
Orale	Rats	2.53-58.4
	Souris	4.1-38
	Lapins	27
	Cochons d'Inde	77.5
Cutanée	Rats	21.9
	Lapins	18.7

Les vapoteurs reconnaissent que le PG est plus irritant que la GV, ce qui s'appuie sur des études de toxicologie aigüe. Dans les formulations des e-liquides, la GV est un aussi un véhiculant et il intensifie la production d'aérosol. Donc, les variations dans le rapport PG:GV dépendra de ce qui le vapoteur veux vivre pendant le vapotage, soit de prioriser la sensation d'inhalation dans la gorge ou la création d'un aérosol plus dense et abondant. Bien que le PG et la GV aient une faible toxicité, les conséquences sur la santé dûes à l'inhalation prolongée de ces substances restent peu étudiées.

Par ailleurs, la dégradation thermique du PG et de la GV peut générer des carbonyles tels que l'acroléine, l'acétaldéhyde et le formaldéhyde, qui sont des substances nocives.

2.2.1.3 Nicotine

La nicotine est un alcaloïde aussi appelé 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)pyridine et sa formule chimique est $C_{10}H_{14}N_2$ (Figure 2.6) (Vautrot, 2016). Elle est une base faible avec un pKa égal à 8,5 (Eaton et al., 2018). De plus, elle est la cause principale de la dépendance au tabac dû à ses effets pharmacologiques tels que la libération de dopamine et d'adrénaline ou encore l'augmentation du rythme cardiaque.

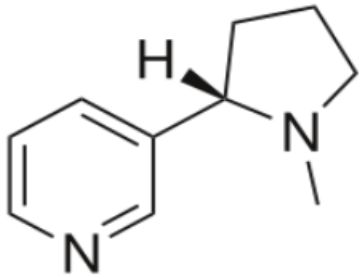

Figure 2.6. Structure chimique de la nicotine (Extrait de Vautrot (2016)).

Dans les formulations des e-liquides, la présence de la nicotine est optionnelle. Normalement, les e-liquides qui contiennent de la nicotine dans leurs compositions le font dans une concentration variable. Cheng (2014) a fait une revue de la littérature liée aux CÉ et leur aspect chimique, en se basant sur les articles publiés entre 2007 et 2013. Selon cette revue, la concentration de nicotine fluctue parmi les différentes marques d'e-liquides et elle se trouverait dans l'intervalle de 0 à 87.2 mg/mL. Il a été aussi observé qu'il y n'a pas un consensus dans les unités pour exprimer la concentration de nicotine; de plus, il existe un écart entre la teneur en nicotine étiquetée sur la bouteille des liquides et sa valeur réelle de concentration (Cobb et al., 2010; Etter & Bugey, 2017; Goniewicz et al., 2013), ce qui dévoile un manque de réglementation dans la production des e-liquides. Toutefois, ce n'est plus le cas au Canada qui limite depuis 2021 la concentration maximale de nicotine à 20 mg/mL.

La présence de nicotine dans l'aérosol joue un rôle important, car celle-ci déterminera la satisfaction du fumeur, la réussite du sevrage tabagique et le niveau d'exposition à cette substance. Les études récentes ont conclu que l'augmentation de la production d'aérosol de nicotine par les CÉ dépendra de l'efficacité du dispositif, de la durée de la bouffée et de la concentration élevée de nicotine dans les e-liquides (Dawkins et al., 2016; Ramôa et al., 2016; Talih et al., 2015). En ce qui concerne l'exposition de la nicotine dans les aérosols de CÉ, les études toxicologiques sont limitées.

Dans le but d'établir la dose nocive de nicotine en aérosol, Phillips et al. (2017) ont effectué une étude de toxicité subchronique par inhalation de 90 jours avec des rats Sprague Dawley en suivant le protocole établi par l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE). Les formules d'e-liquides consistaient de PG, de GV et de nicotine. Avec une CÉ, les animaux ont été exposés aux aérosols de nicotine selon la méthode d'exposition de Shao et al. (2013) laquelle a démontré une pharmacocinétique de la nicotine comparable à celle du tabagisme humain. En utilisant les données d'inhalation de nicotine dans les rats, les chercheurs ont calculé la valeur de la dose équivalente chez l'humain (DÉH) de nicotine, laquelle était égale à 1.1 mg/kg p.c., ce qui correspondrait à une dose journalière de nicotine de 66 mg pour un individu de 60 kg. Les effets nuisibles à cette dose étaient : l'augmentation du poids du foie et des glandes surrénales, la vacuolisation des cellules hépatiques et la diminution du poids du thymus.

Généralement, un vapoteur consomme entre 2 et 6 mL d'e-liquide par jour et la concentration de nicotine normalement est entre 1 et 50 mg/mL (Gholap et al., 2020). En supposant le pire scénario avec un volume maximal d'e-liquide (6 mL) et une concentration de nicotine de 50 mg/mL, la dose de nicotine inhalée par un vapoteur excèderait quatre fois la valeur de la DÉH dans un seul jour. Néanmoins, au quotidien, ceci n'arrive pas parce qu'il a été prouvé que les utilisateurs de CÉ sont capables d'ajuster leur apport de nicotine en titration autonome (Dawkins et al., 2016).

Une autre étude d'exposition subchronique par inhalation a exposé les rongeurs de Sprague-Dawley à trois formulations distinctes d'e-liquide (première formulation : 77 PG / 23 GV, deuxième formulation : 75,5 PG / 22,5 GV plus 2 % w/w de nicotine et troisième formulation : 62,3 PG / 18,1 GV, 2 % w/w nicotine et 17,6 % d'arômes). Les doses journalières de MP 3.2, 9.6 et 32.0 mg/kg/jour et le diamètre des particules d'aérosol était 1 µm (MP_1), alors les MP se trouvaient dans la fraction de fines. L'effet nocif a été atteint quand la dose était

de 9.6 mg/kg/jour pour les trois formulations, en provoquant une diminution de la masse corporelle des rongeurs (Werley et al., 2016). Les DÉH en relation aux MP_1 étaient de 160 mg/jour, de 480 mg/jour et de 1 600 mg/jour.

Selon les études mentionnées ci-dessus, la toxicité des aérosols des CÉ est liée aux composés chimiques et leurs quantités présentes dans l'aérosol.

L'absorption et l'excrétion de la nicotine sont influencées par sa valeur de pH (IOM, 2001). Dans les formulations des e-liquides, la nicotine peut se trouver soit sous la forme non protonée (base libre) ou protonée (sels de nicotine). Selon sa forme moléculaire, la nicotine atteindra des valeurs de pH différentes. Donc, la toxicité de l'aérosol de la CÉ pourrait aussi être associée avec la forme moléculaire de la nicotine. Lors d'une étude avec des rongeurs exposés aux aérosols de nicotine, Shao et al. (2013) ont déterminé que la valeur de concentration létale 50 (CL_{50}) de la nicotine était 2.3 mg/mL avec un pH de 7.4, tandis qu'avec un pH de 6.8, la CL_{50} était > 4.1 mg/mL. La nature hydrophile de la forme protonée de la nicotine pourrait empêcher sa diffusion à travers des membranes; cela n'est pas observé dans la forme non protonée ou base libre, laquelle est lipophilique.

Les sels de nicotine sont les sous-produits de la réaction entre la nicotine dans sa forme de base libre et un acide organique faible, où l'anneau pyrrolidine gagne un ion d'hydrogène (H^+) et la molécule devient protonée. Les e-liquides avec sels de nicotine peuvent avoir une concentration de nicotine supérieure aux bases libres en générant des effets sensoriels moins aversifs, ce qui les rend plus attrayants (Barrington-Trimis & Leventhal, 2018; Leventhal et al., 2021).

Il semblerait que les aérosols de sels de nicotine sont peu nocifs en comparaison à la nicotine. Phillips et al. (2015) ont évalué la toxicité de trois types d'aérosols. Chaque aérosol était composé d'une des substances suivantes : la nicotine, le pyruvate de sodium et le mélange de nicotine avec de l'acide pyruvique. Les rongeurs de Sprague-Dawley ont été exposés pendant 28 jours. Les résultats ont montré que la mortalité des rats était réduite lorsque l'acide pyruvique ou le pyruvate de sodium étaient administrés simultanément avec de la nicotine.

2.2.2 Arômes

Le marché de vapotage se caractérise par l'offre d'une panoplie d'e-liquides aromatisés. En 2014, les vapoteurs avaient accès à plus de 7 000 e-liquides avec des arômes différents (Zhu et al., 2014).

Les arômes jouent un rôle important dans les e-liquides, puisqu'ils sont non seulement capables d'imiter l'arôme du tabac, mais ils offrent aussi des nuances de fruits, de desserts, de boissons et de menthes (Qu et al., 2018), lesquels contribuent à améliorer la perception de plaisir lors du vapotage et rend plus facile le processus de sevrage tabagique (Farsalinos et al., 2013).

Lors d'une révision de la littérature en relation aux arômes des e-liquides, Krüsemann et al. (2018) ont proposé un diagramme de la roue des arômes pour classifier les différentes saveurs (Figure 2.7).

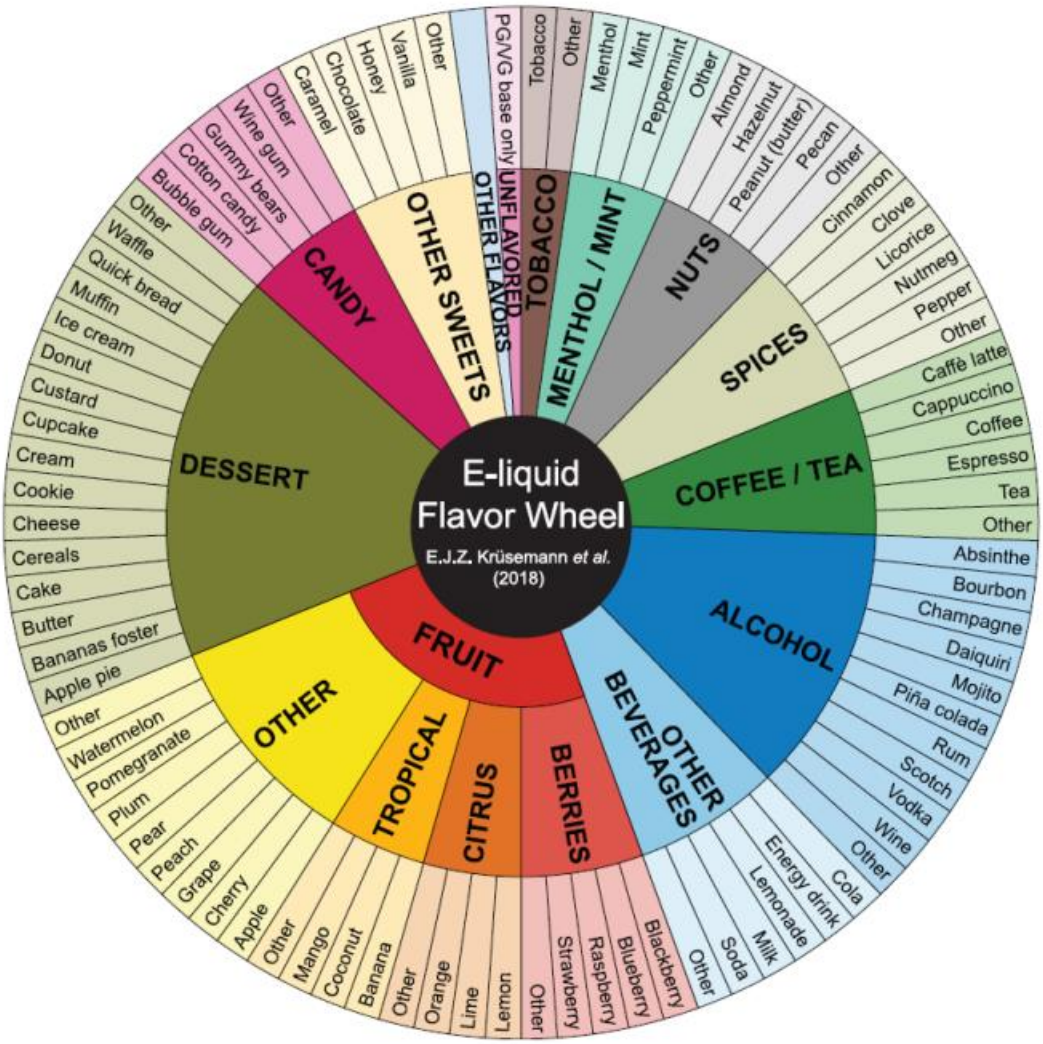

Figure 2.7. Roue des arômes d'e-liquides (Extrait de Krüsemann et al. (2018)).

Afin de comprendre l'importance des arômes dans l'usage des CÉ, une enquête sur le Web a été faite dans un groupe d'environ 5 000 vapoteurs expérimentés où 70 % des répondants ont déclaré d'avoir vapoté des arômes distincts au cours de la journée et que la diversité des arômes disponibles

était « très importante » dans le processus d'abandon de la cigarette conventionnelle. De plus, en cas d'une éventuelle restriction des arômes, plus de la moitié de répondants n'hésiteraient pas à reprendre la cigarette conventionnelle (Farsalinos et al., 2013).

Cependant, une telle variété d'arômes est appréciée parmi les jeunes non-fumeurs qui sont attirés par les arômes fruités et doux (Zare et al., 2018; Zhu et al., 2014) (Figure 2.8). Selon des statistiques canadiennes, le taux de consommation des CÉ parmi les jeunes a augmenté lors des dernières années (Figure 2.9). Ceci pourrait amener à développer, de façon indirecte, une dépendance à la nicotine dans la jeunesse.

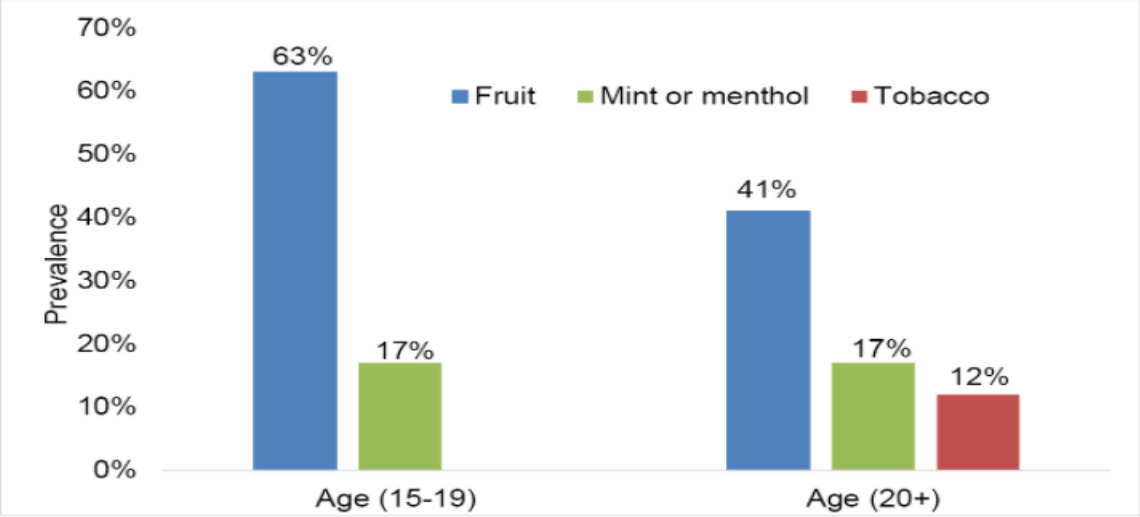

Figure 2.8. Arômes préférés parmi les jeunes au Canada (Extrait de Government of Canada, (2021a))

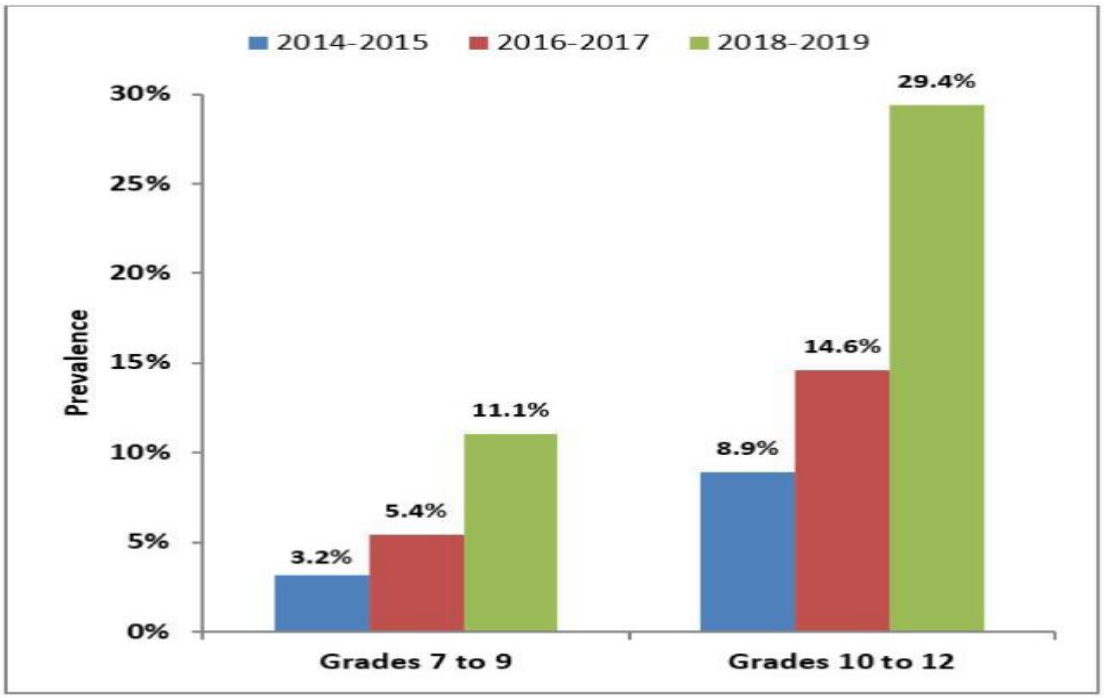

Figure 2.9. Augmentation du taux de consommation des CÉ chez les jeunes (Extrait de Government of Canada (2021a)).

Plusieurs e-liquides détiennent de 1 à 4 % d'arômes dans leurs formulations (Tierney et al., 2016), mais en général les informations sur ces substances chimiques qui constituent ces arômes ainsi que leurs concentrations ne sont pas indiquées sur les étiquettes des bouteilles. Alors, différentes recherches ont été réalisées pour découvrir quelles sont les substances chimiques les plus utilisées dans la formulation des arômes pour les e-liquides. Une étude basée sur l'analyse de 30 e-liquides de recharge, provenant de BLU et NJOY – qui sont les marques les plus vendues aux magasins de vapotage à Portland, Oregon aux États-Unis – indiquait la vanilline, l'éthyl vanilline, le maltol, l'éthyl maltol, le benzaldéhyde, l'alcool benzylique, le butyrate d'éthyle et l'acétate d'éthyle comme les composés chimiques les plus utilisés dans l'élaboration des arômes du tabac, du menthol, de la vanille, de la cerise et du café. De plus, une analyse de risque a été faite pour les composés de benzaldéhyde et de vanilline, en supposant une consommation de 5 mL de liquide par jour : l'inhalation de ces substances dépasse deux fois les valeurs d'exposition de benzaldéhyde et de vanilline (Tierney et al., 2016). Dans une autre recherche similaire, l'analyse de 39 e-liquides a démontré que les substances chimiques les plus utilisées (supérieures à 1 mg/mL) pour l'élaboration d'arômes étaient : le menthone, l'éthyl maltol, le benzaldéhyde, le maltol, l'alcool benzylique, la vanilline, le menthol, le cinnamate d'éthyle et la triacétine. Ces composés chimiques

se trouvaient dans un intervalle de concentration de 0.141 mg/ml à 179 mg/mL et ils font partie de la formulation d'arômes fruités, crémeux, sucrés et mentholés (Behar et al., 2018). Des études toxicologiques par voie orale sur des rongeurs ont montré que les substances chimiques mentionnées auparavant sont considérées irritantes ou dangereuses.

Bien que les arômes aient la désignation de substances GRAS par la FDA, il est important de les inclure dans les études toxicologiques des CÉ, car leur innocuité est applicable à l'ingestion seulement et non à l'inhalation. D'ailleurs, des recherches récentes indiquent que les arômes seraient une source potentielle de carbonyles pendant la formation d'aérosol et la toxicité de celui-ci serait influencée par la puissance du dispositif. Par exemple, Behar et al. (2018) ont évalué les aérosols provenant des e-liquides avec du cinnamaldéhyde, du menthol et de l'alcool benzylique en concentrations maximales à 3 V (ou 4.3 watts) et 5 V (ou 11.9 watts). La toxicité de l'aérosol était plus élevée à 5 V dû à la formation de nouveaux composés chimiques tels que l'hydroxyacétone, l'acétoïne et le diacétyle. Les paragraphes suivants montreront des études toxicologiques des aérosols générés avec des liquides contenant des arômes.

Muthumalage et al. (2018) ont évalué la formation d'ÉRO et les effets du stress immunotoxicologique sur deux types de cellules monocytaires humaines, Mono Mac 6 (MM6) et U937. L'intervalle de concentration de doses se trouve entre 10 µM et 10 000 µM. Les cellules monocytaires ont sécrété de l'interleukine 8 (IL-8) et produit du H_2O_2. Le premier est un biomarqueur de la réponse inflammatoire tandis que le H_2O_2 est un type d'ÉRO. Le cinnamaldéhyde, l'o-vanilline et le pentanedione étaient les plus nocifs avec les cellules monocytaires et l'intensité de la lésion s'intensifiait lorsque les arômes étaient mélangés (Muthumalage et al., 2018). La cytotoxicité étant reliée au nombre et à la concentration des substances chimiques qui forment les arômes (Bahl et al., 2012), il est possible de déduire que les e-liquides aux arômes multiples (également connus sous le nom de « e-liquides mélangés ») pourraient avoir une toxicité plus importante.

2.2.2.1 *Le benzaldéhyde*

Malgré sa toxicité potentielle par inhalation, le benzaldéhyde présente des niveaux importants dans les formulations des e-liquides avec un arôme de cerise. Dans 145 échantillons d'e-liquides quantifiés par Kosmider et al. (2016), 75 % des e-liquides de recharge avaient dû benzaldéhyde, lequel se trouvait à une concentration supérieure dans les produits avec arôme de cerise

(5.129 µg/30 bouffées – 141.2 µg/30 bouffées) en comparaison aux produits non aromatisés à la cerise (0.025 µg/30 bouffées – 10.27 µg/30 bouffées). La dose journalière moyenne pour l'inhalation de benzaldéhyde dans les e-liquides était de 70.3 µg, ce qui est inférieur à 1 000 fois la limite d'exposition admissible (LEA) de benzaldéhyde défini pour une exposition de 8 h au travail. Toutefois, les valeurs seuils d'exposition professionnelle établies (8 h d'exposition au travail pendant 5 jours par semaine, en supposant un temps de récupération de 16 h après le travail plus 48 h pendant la fin de semaine (Allen et al., 2016)) ne considèrent pas les conditions réelles d'usage des CÉ, car le nombre de bouffées est variable et les temps de récupération ont tendance à être plus courts donc la durée d'exposition aux aérosols des CÉ a tendance à être plus importante.

2.2.2.2 *Le cinnamaldéhyde*

Le cinnamaldéhyde est le composé chimique principal utilisé dans la formulation d'e-liquides avec un arôme à la cannelle. Behar et al. (2016) ont également identifié le cinnamaldéhyde dans les liquides avec des arômes au tabac et sucrées (y compris au caramel). De plus, ils ont étudié la distribution, la quantification et la toxicité du cinnamaldéhyde dans les e-liquides de recharge ainsi que leurs aérosols. En utilisant la méthode de GC-MS, ils ont déterminé que 51 % des échantillons possédaient cette substance à des niveaux qui provoquaient du dommage cytotoxique pour les cellules embryonnaires (hESC) et pulmonaires (hPF) humaines lors d'un test de viabilité cellulaire.

De façon générale, les niveaux de cinnamaldéhyde étaient supérieurs à la valeur de dose minimale avec effet nocif observé (DMENO) dans 100 % des échantillons. L'échantillon à saveur de cannelle de Ceylan a été utilisé pour évaluer la toxicité dans l'aérosol par rapport à l'e-liquide composée seulement de PG. L'augmentation du voltage (de 3 V à 5 V) a intensifié la toxicité d'aérosol produit à partir de l'échantillon de cannelle de Ceylan, dû à la formation de nouveaux sous-produits parmi lesquels se trouvait du 2,3-butanedione (diacétyle). En outre, les concentrations de cinnamaldéhyde en aérosol en dessous de la DSENO ont affecté la prolifération cellulaire en entraînant une décroissance des colonies, une augmentation de la motilité cellulaire ainsi qu'une hausse de la mort des cellules hESC. Pareillement, cette étude indique aussi que le cinnamaldéhyde dans les liquides de CÉ serait capable d'altérer l'homéostasie respiratoire.

Par conséquent, le cinnamaldéhyde est un composé chimique de cytotoxicité élevé, même à des concentrations non dommageables. De plus, il possède une large distribution puisqu'il fait partie de divers types d'arômes utilisés dans les e-liquides. Ceci dit, de nombreux manufacturiers de e-

liquides procèdent à l'élimination de ces composés des e-liquides qu'ils produisent afin de se conformer à la Loi canadienne sur la sécurité des produits de consommation (LCSPC) qui interdit de vendre un produit de consommation s'il présente un danger pour la santé humaine.

2.2.2.3 *Le diacétyle, l'acétylpropionyle et l'acétoïne*

Le diacétyle (2,3-butanedione), l'acétylpropionyle (AP) (2,3-pentanedoine) et l'acétoïne (3-hydroxybutanone) sont des substances chimiques qui donnent une saveur crémeuse (p.ex., beurre, caramel, caramel au beurre, piña colada et fraise) aux produits alimentaires (Allen et al., 2016). Ces arômes sont également utilisés dans la production des e-liquides. Allen et al. (2016) ont analysé les e-liquides vendus dans les dépanneurs aux États-Unis pour vérifier la présence de diacétyle, d'acetylpropionyl et d'acétoïne. Les résultats démontraient que 90 % des échantillons évalués avaient au moins un de ces arômes dans leur composition. Voir Tableau 2.4.

Tableau 2.4. Masse estimée des substances chimiques aromatiques dans les cigarettes électroniques (µg/cigarette électronique) (Extrait de Allen et al. (2016)).

Flavor	Brand	Flavor type	Diacetyl (2,3-butanedione)	2,3-Pentanedione	Acetoin
Classic	A	Tobacco	3.9	1.0	37.5
Classic	A	Tobacco	< LOD	< LOD	< LOD
Menthol	A	Other	< LOD	< LOD	< LOD
Menthol	B	Other	< LOD	< LOD	< LOD
Original	B	Tobacco	< LOD	< LOD	< LOD
Cherry Crush	C	Fruit	< LOQ	< LOD	9.0
Cherry Crush	C	Fruit	14.7	3.4	165.6
Classic	C	Tobacco	< LOQ	0.8	18.1
Java Jolt	C	Brown	21.5	7.4	212
Menthol	C	Other	8.3	2.7	18.3
Peach Schnapps	C	Cocktail	238.9	64.4	529.2
Pina Colada	C	Cocktail	27.0	7.1	45.5
Pina Colada	C	Cocktail	1.6	< LOD	130
Pina Colada	C	Cocktail	< LOD	< LOD	< LOD
Pina Colada	C	Cocktail	< LOD	< LOD	16.5
Vanilla	C	Brown	< LOD	0.9	< LOD
Bold	D	Tobacco	5.9	< LOD	39.8
Gold	D	Tobacco	0.6	< LOD	7.0
Menthol	D	Other	4.9	< LOQ	9.6
Pomegranate	D	Fruit	< LOD	0.2	11.9
Pomegranate	D	Fruit	6.9	< LOD	41.4
Vanilla Bean	D	Brown	6.7	< LOD	13.1
Bad Apple	E	Fruit	6.0	< LOD	< LOQ
Banana	E	Fruit	< LOD	< LOD	< LOQ
Cin	E	Other	38.4	23.4	< LOQ
Iced Berry	E	Fruit	6.6	< LOD	33.4
Iced Berry	E	Fruit	2.6	< LOD	17.3
Just Guava	E	Fruit	< LOQ	< LOD	7.3
Kick!	E	Brown	20.0	< LOD	19.1
Lime and Coconut	E	Fruit	10.3	< LOD	77.9
Peach Pit	E	Fruit	< LOD	< LOD	6.1
Snap!	E	Brown	10.9	3.4	88.2
Strawberry	E	Fruit	< LOQ	< LOD	5.2
Cherry	F	Fruit	4.2	< LOD	35.6
Double Apple Hookah	F	Fruit	21.1	2.3	193.5
Franks Lemon Lime	F	Fruit	4.2	1.1	47.3
Grape Hookah	F	Fruit	1.5	1.6	27.9
Orange Mint	F	Fruit	1.1	1.5	27.9
Peach	F	Fruit	8.3	< LOD	117.5
Pina Colada	F	Cocktail	11.6	0.7	55.8
Watermelon	F	Fruit	13.3	1.4	224.3
Watermelon	F	Fruit	7.4	< LOD	72.5
Bluewater Punch	G	Fruit	< LOD	< LOD	3.8
Cherry Lava	G	Fruit	< LOD	< LOD	5.6
CooCoo Coconut	G	Brown	1.0	< LOD	19.5
Milk Chocolate	G	Dairy	< LOD	< LOD	9.7
Pineapple Punch	G	Fruit	< LOD	< LOD	10.4
Waikiki Watermelon	G	Fruit	4.4	< LOQ	2.1
Alien Blood	H	Fruit	0.4	< LOD	19.4
Carmel Popcorn	H	Brown	0.3	< LOD	1.5
Cupcake	H	Brown	0.3	4.6	1.3
Energy Drink	H	Other	< LOD	< LOD	12.2
Fruit Squirts	H	Fruit	0.9	< LOD	114.4
Oatmeal Cookie	H	Other	2.2	4.2	26.1
Bubble Gum	I	Other	< LOD	< LOD	< LOD
Cheesecake	I	Dairy	0.9	< LOD	< LOD
Cola	I	Brown	< LOQ	0.2	3.7
Cotton Candy	I	Fruit	0.8	< LOD	8
Tutti Frutti	I	Fruit	9.3	0.8	24.7

< LOQ: detected by the laboratory above the laboratory limit of detection (LOD) but less than the limit of quantification (LOQ); LOQ by batch 1 and batch 2 (diacetyl: 2.3 µg, 0.19 µg; 2,3-pentanedione: 0.07 µg, 0.38 µg; acetoin: 1.08 µg, 3.2 µg).
< LOD: not detected above the laboratory limit of detection (LOD), 0.05 µg.

Bien que ces substances aient la désignation GRAS, il existe des preuves suffisantes pour les considérer comme substances nocives lors d'une exposition par voie d'inhalation. Le diacétyle est associé au développement de bronchiolite oblitérante, qui est une maladie qui cause la perte irréversible du fonctionnement du poumon; à son plus sévère, la seule solution est la transplantation pulmonaire (OSHA, 2007). Cette maladie est aussi surnommée « poumon de maïs soufflé » parce qu'elle a été détectée chez les ouvriers des usines de maïs soufflé pour micro-ondes (Barrington-

Trimis et al., 2014; Shields et al., 2017). Les ouvriers de ces usines ont été exposés au diacétyle lorsque l'arôme de beurre était chauffé et devenait un aérosol; s'est ensuit une augmentation dans les cas de toux chronique, de bronchite, d'asthme et de bronchiolite oblitérante parmi les ouvriers (Kreiss et al., 2002; OSHA, 2007). Des ouvriers avec de la bronchiolite oblitérante ont aussi été détectés dans les usines de fabrication d'arômes (NIOSH, 2016b). Des études toxicologiques réalisées chez les animaux ont démontré que l'exposition des rongeurs au diacétyle peut provoquer des lésions respiratoires (Hubbs et al., 2008; Morgan et al., 2008).

Afin de protéger les ouvriers, l'usage de diacétyle a été interdit, puis a été remplacé par de l'AP et de l'acétoïne, vu qu'ils possèdent une structure chimique similaire au diacétyle (Figure 2.10), en plus de fournir le même profil de saveur.

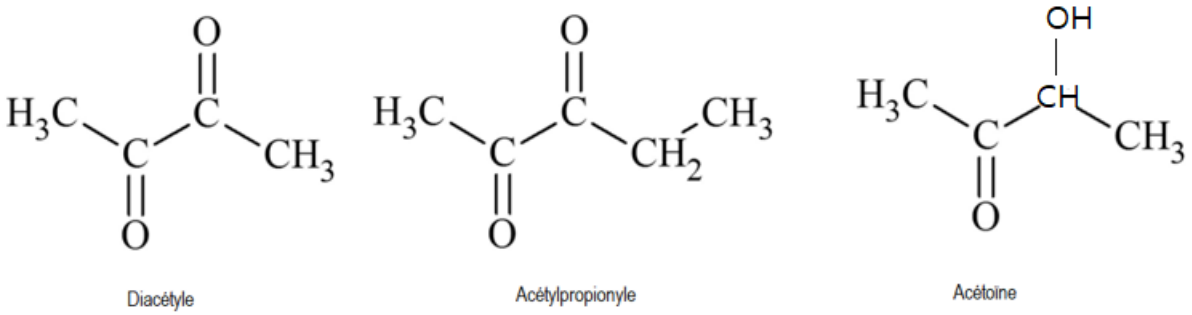

Figure 2.10. Structure moléculaire du diacétyle, de l'acétylpropionyle et de l'acétoïne (Adapté de Farsalinos et al. 2015).

Malheureusement, des études toxicologiques in vivo démontrent que l'AP occasionne de la fibrose des voies respiratoires intrapulmonaires chez les rongeurs et des changements pathologiques similaires à la bronchiolite oblitérante (Morgan et al., 2012). En outre, l'AP pourrait causer des dommages épithéliaux des voies respiratoires (Hubbs et al., 2012; Morgan et al., 2016). La structure chimique de l'acétoïne possède un groupe α-hydroxycétone au lieu d'un groupe α-dicétone, ce qui est responsable pour la toxicité du diacétyle et de l'AP, raison pour laquelle l'acétoïne est considérée moins toxique (NIOSH, 2017; Vas et al., 2019). Des études sur les rongeurs ont établi 800 ppm d'acétoïne comme la dose maximale; cette valeur est huit fois supérieure à celle du diacétyle (Hubbs et al., 2012; NIOSH, 2016a).

Une autre étude a analysé 159 e-liquides avec des arômes provenant de fournisseurs américaines et européens où presque les trois quarts des échantillons présentaient du diacétyle et/ou de l'AP dans les e-liquides ainsi que dans les aérosols (Farsalinos et al., 2015). Cette recherche a conclu que les molécules de diacétyle et d'AP passent facilement dans la phase aérosol inhalable. De très fortes corrélations ont été enregistrées pour les quantités attendues de dicétones dans l'aérosol en fonction de la quantité de liquide consommée. Ceci prouve l'importance des essais analytiques du liquide puisque cela fournira des informations sur la toxicité potentielle de l'aérosol. Toutefois, tout comme pour le cinnamaldéhyde, les manufacturiers de saveurs et de e-liquides bannissent le diacétyle de leurs formulations afin de se conformer à la LCSPC.

2.3. Relargage de métaux dans les dispositifs de la cigarette électronique

La fumée de la cigarette conventionnelle est une source importante d'éléments inorganiques, incluant les métaux traces (Chiba & Masironi, 1992), spécialement le cadmium (Cd) et le cuivre (Cu) (Bernhard et al., 2005). Comme plusieurs pièces qui composent la CÉ sont métalliques, il est prudent de vérifier un possible relargage de métaux vers la phase aérosol des CÉ ainsi que d'identifier les sources potentielles de relargage. Également, il faut le comparer avec les concentrations de métaux atteints dans la fumée du tabac afin de savoir si l'aérosol de la CÉ entraîne moins de risques suite à l'exposition aux métaux traces.

En analysant l'aérosol par ICP-MS ou ICP-EOS, de multiples études ont détecté des ions métalliques tels que du Cu, du Cr, du Ni, du Cd et du Pb (Hess et al., 2017; Na et al., 2019; Ohashi, 2018; Palazzolo et al., 2017; Williams et al., 2013). Bien qu'ils ne soient pas des éléments ajoutés dans la formulation des e-liquides, leur origine est normalement associée aux pièces métalliques du dispositif tels que des joints soudés (Williams et al., 2017) et principalement à l'élément chauffant, puisque la plupart des ions métalliques retrouvés dans l'aérosol correspondent à la composition de l'élément chauffant (Arnold, 2018; Olmedo et al., 2018; Williams et al., 2019; Zervas et al., 2020).

Les éléments chauffants sont des filaments métalliques, qui dans la plupart de cas, sont fait de différents types d'alliages (Dworniczak, 2016) ou en utilisant des métaux de haute pureté tels que le titane (Ti) ou le Ni (Farsalinos et al., 2015; Olmedo et al., 2018; Zhao et al., 2020). Le Kanthal – qui est un alliage de fer (Fe), de Cr et d'aluminium (Al) – ainsi que le Nichrome – constitué de Ni et de Cr – (Farsalinos et al., 2015) sont les éléments chauffants les plus souvent utilisés.

Parmi les métaux identifiés dans l'aérosol de CÉ se retrouvent des ions métalliques qui font partie de la liste de la FDA des « produits chimiques nocifs et potentiellement nocifs », tels que le Cr, le Pb et le Ni. Ceux-ci causent des effets graves sur la santé y compris le cancer (García-Esquinas et al., 2014; Kuo et al., 2017), des maladies cardiovasculaires (Chowdhury et al., 2018; Moon et al., 2012), des lésions rénales (Suwazono et al., 2006) et de la neurotoxicité (Singh Sankhla et al., 2017). Il est indéniable que la présence de métaux dans les aérosols des CÉ serait préoccupante si les concentrations détectées dépassaient les valeurs limites. Cependant, des chercheurs tels que Farsalinos et al. (2015) ont considéré que les données recueillies jusqu'à aujourd'hui manquent d'évaluation appropriée de l'exposition à ces métaux. Dans les prochaines sous-sections, nous présenterons les causes qui pourraient contribuer au relargage de métaux et les mécanismes d'évaluation de l'exposition qui pourraient être utilisés pour combler le besoin d'informations.

2.3.1 Présence de métaux dans les e-liquides

Il a été montré qu'il y a présence de métaux traces dans les e-liquides de recharge de la CÉ. Dans la plupart des cas, les niveaux de métaux quantifiés dans les e-liquides sont variables avec des valeurs qui sont assez faibles, inférieures à 0.1-0.2 ppm (Laugesen, 2008), ou en dessous des limites de détection de la méthode (Beauval et al., 2016). Il faut considérer que la composition des e-liquides et la qualité des matières premières utilisées lors de leur production sont variables parmi les fabricants (Bertholon et al., 2013).

Il est soupçonné que les arômes soient une source de contamination en métaux traces (Beauval et al., 2016; Kamilari et al., 2018), à cause des niveaux élevés de certains éléments métalliques tels que le zinc (Zn) et l'antimoine (Pellegrino et al.) dans quelques e-liquides aromatisés; néanmoins, l'analyse de plus d'e-liquides disponibles sur le marché est nécessaire pour confirmer cette hypothèse. Parmi les métaux traces identifiés, certaines études ont signalé la présence d'As à des niveaux variables dans quelques e-liquides. Beauval et al. (2016) a détecté 1.5 µg/L, tandis que Palazzolo et al. (2017) ont mesuré 0.08 ± 0.04 µg/L. Olmedo et al. (2018) ont identifié de l'As dans 10 % des échantillons étudiés (sur un total de 56 e-liquides). Malgré cette quantité limitée de liquides, la présence de l'As pourrait être inquiétante et exige des études plus approfondies afin de détecter si d'autres liquides contiennent de l'As. Il serait intéressant également de déterminer sa spéciation, vu que la toxicité de l'As dépend fortement de son espèce chimique, selon laquelle les

valeurs de la dose létale moyenne (DL 50) et de la concentration létale moyenne (CL 50) peuvent varier (Charoensuk et al., 2009; Moe et al., 2016).

En relation à la concentration d'As dans la phase aérosol générée par ces échantillons, Olmedo et al. (2018) signale que les niveaux mesurés d'As dans la phase liquide restent similaires dans l'aérosol. Concernant le Cd, les concentrations atteintes pour celui-ci ont tendance à être très faibles ou en dessous des limites de détection dans la majorité des liquides (Beauval et al., 2016; Hess et al., 2017).

Les concentrations de métaux traces dans les e-liquides qui restent en contact avec les compartiments de CÉ comme le réservoir, le clearomiseur et l'élément chauffant en absence de tout processus de chauffage sont plus élevées en comparaison aux e-liquides qui se retrouvent dans les bouteilles de recharge; ce phénomène a été observé dans les études de Hess et al. (2017); Na et al. (2019); Neu et al. (2020). Voir tableau 2.5.

Tableau 2.5. Concentration de métaux (écart-type) en µg/mg dans les e-liquides (Extrait de Zhao et al. (2020))

Ref	Type of e-liquid	Al[a]	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Sb	Zn
Talio et al. 2015	Bottle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8 (0.9)	—	—
Beauval et al. 2016	Bottle	11.1 (2.8)	1.0 (0.6)	<0.3 (LOQ)	0.2 (0.1)	6.2 (1.1)	12.6 (2.2)	—	1.7 (1.4)	<13.8 (LOQ)	<0.9 (LOQ)	6.2 (27.1)	130 (47.8)
Beauval et al. 2017	Bottle	10.0 (1.5)	0.8 (0.4)	<0.3 (LOQ)	0.1 (0.08)	4.5 (1.1)	16.3 (6.7)	—	1.6 (0.9)	<13.8 (LOQ)	<0.9 (LOQ)	1.2 (0.1)	<172 (LOQ)
Palazzolo et al. 2017	Bottle	6.6 (0.4)	0.07 (0.03)	<0.009 (LOD)	—	—	<0.009 (LOD)	3.5 (0.2)	0.1 (0.005)	0.1 (0.006)	<0.009 (LOD)	—	0.4 (0.03)
Talio et al. 2017	Bottle	—	—	12.6 (4.0)	—	—	—	—	—	14.5 (6.8)	—	—	—
Dunbar et al. 2018	Bottle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<7.8 (LOQ)	—	—
Kamilari et al. 2018	Bottle	—	<1.0 (LOD)	<25.0 (LOD)	—	8.4 (55.5)	9.5 (47.3)	—	—	4.7 (27)	2.2 (10.3)	—	—
Olmedo et al. 2018	Bottle	15.0 (11.7)	3.6 (10.3)	0.07 (0.000)	0.2 (0.3)	1.6 (2.2)	20.0 (38.1)	65.2 (102)	6.2 (20.7)	28.9 (43.8)	1.04 (1.94)	0.9 (3.7)	41.3 (137)
Song et al. 2018	Bottle	—	1.9	0.7	—	NR	NR	—	—	3	10.5	—	NR
Flora et al, 2016	Cartridge	—	<430 (LOQ)	<220 (LOQ)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hess et al. 2017[b]	Cartridge	—	—	176 (273)	—	1815 (4489)	—	—	5943 (10492)	19436 (20984)	1694 (1247)	—	—
		—	—	1.0 (0.9)	—	678 (244)	—	—	576 (243)	11524 (3904)	50 (68.3)	—	—
		—	—	1.4 (1.1)	—	199 (61.6)	—	—	172 (29.2)	398 (114)	5.0 (1.5)	—	—
		—	—	0.8 (0.7)	—	65.4 (9.5)	—	—	35.7 (12.0)	50.5 (19.3)	4.2 (0.8)	—	—
		—	—	0.4 (0.3)	—	46.4 (6.0)	—	—	24.7 (8.4)	98 (42.4)	80.3 (69.2)	—	—
Dunbar et al. 2018	Cartridge (cig-a-like)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<7.8 (LOQ)	—	—
	Cartridge (pod)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<7.8 (LOQ)	—	—
	Open wick	—	—	—	—	—	—	—	—	—	202	—	—
Zhao et al. 2018	Bottle, cartridge	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	220
Olmedo et al. 2018	Tank	101 (176)	4.2 (11.6)	0.4 (1.0)	10.8 (17.1)	214 (346)	1990 (5550)	1880 (3860)	124 (247)	2510 (8160)	517 (1520)	3.6 (7.5)	3250 (9640)

Stephens (2017) a suggéré que les pièces du clearomiseur dans les dispositifs préremplis souffrent d'un processus de corrosion au fil du temps. Il est aussi possible de considérer une probable dégradation du liquide, étant donné que les dispositifs préremplis comme le cigalike sont normalement distribués par les dépanneurs ou les stations d'essences; les chercheurs croient donc

que les conditions d'entreposage appliquées dans ces établissements ne suivent aucun contrôle de la température, ce qui affecteraient la stabilité du produit (Neu et al., 2020).

Dans le but d'identifier quelle marque de dispositif prérempli est plus problématique par rapport à l'exposition aux métaux, une étude a analysé différentes marques de CÉ préremplies, spécifiquement des cigalikes. Les données finales ont montré des variations importantes dans les concentrations de Cr, de Pb, de Mn et de Ni parmi les multiples marques, et également dans les produits de même marque. Cela pourrait être une conséquence du manque de normes de qualité liées à la fabrication de dispositifs de CÉ (Loewenstein & Middlekauff, 2017; Neu et al., 2020). Il faut aussi considérer que le pH des e-liquides (soit acide ou basique) pourrait produire une potentielle corrosion qui affecterait les dispositifs préremplis, donc les niveaux de relargage de métaux seront variables parmi les CÉ.

Afin d'évaluer l'impact du relargage de métaux produit par l'élément chauffant, l'analyse des e-liquides de recharge est une étape importante, car celle-ci va permettre d'établir une ligne de base par rapport à la concentration de métaux déjà existante dans l'échantillon et leur variation après la mise en contact avec l'élément chauffant. Également, cela permettrait de connaître la qualité des e-liquides disponibles sur le marché.

2.3.2 Relargage de métaux vers l'aérosol

L'étude de l'aérosol de la CÉ a mis en évidence l'existence d'ions métalliques qui arrivent vers la phase aérosol lors de l'aérosolisation de l'e-liquide (Lerner et al., 2015; Margham et al., 2016; Mikheev et al., 2016). L'information disponible indique que l'élément chauffant serait la source principale de relargage de métaux (Eaton et al., 2018) et que le relargage de métaux est associé avec la dégradation de l'élément chauffant métallique. La perte de la masse métallique depuis le premier cycle de chauffage a été confirmée; cette perte sera progressive lorsque le nombre de cycles de chauffage augmente (Mulder et al., 2020) (Figure 2.11). De plus, en ajoutant les possibles propriétés corrosives des liquides (Farsalinos & Carvalho, 2015), ces facteurs combinés perturberaient la structure moléculaire et l'intégrité de l'élément chauffant et favoriseraient ainsi la présence de métaux dans le liquide et l'aérosol.

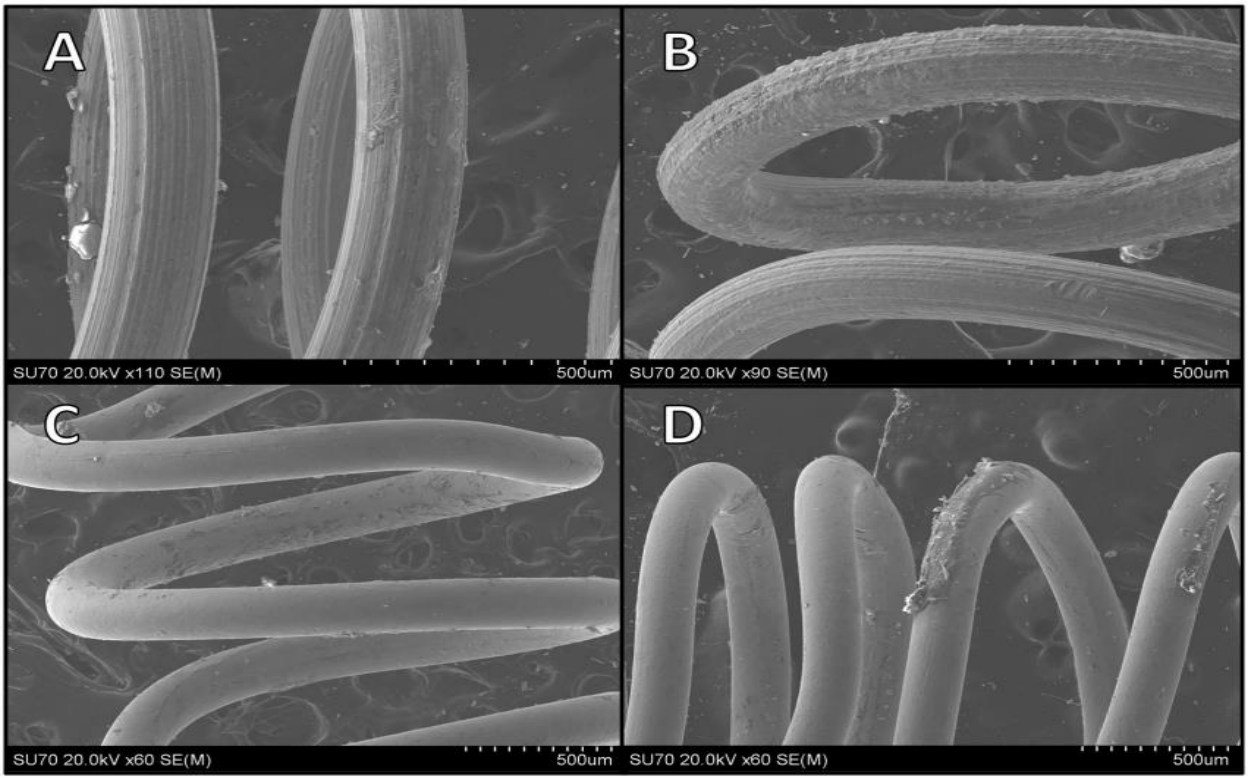

Figure 2.11. Surface de la résistance chauffante de Kanthal après (A) 1 cycle de chauffage. (B) 50 cycles de chauffage. Nichrome (C) 1 cycle de chauffage (D) 50 cycles de chauffage avec SEM-EDX (Extrait de Mulder et al. (2020)).

Selon les études récentes (Eaton et al., 2018; Olmedo et al., 2018; Zervas et al., 2020; Zhao et al., 2019), les niveaux de métaux retrouvés dans les liquides et les aérosols dépendront de la composition de l'élément chauffant, la formulation de l'e-liquide, le type de dispositif, le flux d'air ainsi que certains paramètres d'utilisation tels que la tension appliquée, la température et la durée de la bouffée.

Les données montrent que la teneur en métaux de l'aérosol est fortement liée à la composition métallique de l'élément chauffant. L'analyse de l'aérosol produit par l'élément chauffant en nichrome a détecté des concentrations de Cr parmi ces composants, ce qui est compréhensible puisque le Cr fait partie de la composition métallique du nichrome (Williams et al., 2015).

D'après le type de dispositif, l'utilisateur aura à sa disposition différents intervalles de valeurs de tension (voir tableau 2.1); selon la tension appliquée, la concentration de métaux atteinte au niveau de l'aérosol sera variable. Il a été observé que les dispositifs à système ouvert (p.ex., mods) pourraient générer des aérosols avec des niveaux de métaux plus élevés que les dispositifs à

système fermé (p.ex., cigalike). L'étude de Zhao et al. (2019) a montré que les concentrations moyennes de Ni atteintes dans l'aérosol étaient de 793 et de 2 148 µg/kg pour les mods tandis que les cigalikes atteignaient 1,32 et 11,9 µg/kg. Ce fait peut s'expliquer par la température à laquelle l'élément chauffant s'est rendu : cela augmentera lorsqu'une tension importante est appliquée et par conséquent il y aura une dégradation importante de l'élément chauffant. Zhao et al. (2018) ont montré qu'une augmentation dans la valeur de voltage de 2,2 à 5,7 V impliquait de passer d'une valeur de température de 106,8 à 265,8 °C dans l'élément chauffant. D'ailleurs, l'exposition aux aérosols avec une haute concentration de métaux se traduirait par une dose journalière de métaux plus élevée, et, en considérant que l'absorption de métaux est plus importante par voie d'inhalation (Henry et al., 2020; Nordberg et al., 2007), l'utilisation de valeurs élevées de tension dans les dispositifs de CÉ pourrait être nocive pour la santé des utilisateurs.

Il semblerait que la fréquence de remplacement de l'élément chauffant aurait également une influence sur la concentration de métaux libérés vers l'aérosol. Olmedo et al. (2018) ont enregistré des niveaux importants de métaux lorsque l'élément chauffant était remplacé plus de deux fois par mois. Il y avait des différences significatives pour l'Al, le Cr et le Mn ($p < 0,05$). Voir tableau 2.6.

Tableau 2.6. Concentration de métaux (médiane [intervalle interquartile]) en µg/kg des échantillons selon la fréquence de remplacement de l'élément chauffant (Extrait de Olmedo et al. (2018))

Sample	Coil change	n^a	Al	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Sn	Zn
Dispenser	≤2 times per month	32	11.9 (6.90–19.2)	0.705 (<0.5–2.26)	6.83 (<1.0–19.7)	29.4 (<5.0–77.5)	1.16 (<1.0–2.74)	5.04 (<1.0–41.5)	0.422 (0.202–0.897)	1.12 (0.489–3.84)	14.0 (8.91–36.9)
(n = 55)	>2 times per month	23	10.2 (7.29–21.9)	<0.5 (<0.5–1.13)	<1.0 (<1.0–8.34)	26.6 (10.1–91.9)	1.05 (<1.0–2.53)	1.06 (<1.0–28.7)	0.482 (0.258–1.03)	1.37 (0.485–2.55)	10.4 (5.39–13.8)
	p-Value		0.86	0.15	0.16	0.97	0.99	0.54	0.52	0.73	0.088
Aerosol	≤2 times per month	32	15.4 (11.6–17.2)	0.949 (<0.5–36.2)	14.6 (5.70–53.1)	15.2 (<5.0–107)	1.27 (<1.0–3.58)	68.4 (6.32–252)	14.4 (3.06–46.4)	4.99 (2.22–14.8)	470 (227–809)
(n = 55)	>2 times per month	23	20.3 (15.0–33.8)	21.5 (2.13–84.4)	21.2 (8.79–48.1)	136 (<5.0–374)	6.02 (2.40–21.2)	138 (9.27–376)	16.5 (3.23–32.3)	6.70 (3.87–24.0)	591 (292–831)
	p-Value		0.009	0.038	0.90	0.30	0.015	0.40	0.95	0.28	0.63
Tank	≤2 times per month	30	28.6 (14.0–49.8)	46.6 (17.8–154)	185 (39.0–1.210)	303 (125–1,330)	26.5 (8.55–92.0)	186 (44.2–636)	40.8 (15.5–204)	20.1 (7.52–81.6)	493 (176–1,640)
(n = 49)	>2 times per month	19	35.1 (23.5–148)	132 (18.6–386)	107 (58.3–430)	565 (204–2,600)	33.5 (16.6–160)	329 (114–877)	40.2 (13.0–170)	20.3 (14.3–33.6)	302 (93.5–1,360)
	p-Value		0.081	0.29	0.84	0.33	0.38	0.26	0.84	0.59	0.26

Les forums d'utilisateurs de CÉ indiquent que la vie utile de l'élément chauffant se trouve entre une et deux semaines au maximum, afin de ne pas modifier la qualité de l'aérosol (Brown, 2019). En se basant sur cette affirmation, il est possible que les vapoteurs avec une fréquence importante de remplacement de l'élément chauffant fassent face à une exposition plus importante à certains

métaux. L’intervalle de temps utile de l’élément chauffant est basé sur sa capacité de produire de l’aérosol avec un goût agréable, ce qui peut être variable parmi les vapoteurs. Une recherche plus approfondie sur cet aspect serait pertinente afin d’établir un temps plus précis sur la vie utile de l’élément chauffant.

Des fluctuations ont été rapportées en relation aux concentrations de métaux quantifiées dans les e-liquides des bouteilles de recharge et le réservoir, ainsi que dans l’aérosol. Suite à la mise en contact avec l’élément chauffant, les niveaux de métaux atteints dans le réservoir étaient plus élevés en comparaison à l’aérosol. Olmedo et al. (2018) proposent les hypothèses suivantes pour expliquer cette variation, mais des études plus approfondies sont nécessaires pour les vérifier :

- ✓ Il paraît que la masse transférée des composés métalliques vers l’aérosol pourrait être spécifique au métal.
- ✓ Il a été trouvé que certains métaux existent sous la forme de billes solides dans les gouttes d’aérosol, et il est supposé que ces billes métalliques proviennent des pièces métalliques des CÉ tels que l’élément chauffant (Williams et al., 2013). Le transfert de ces billes vers l’aérosol serait également en fonction du métal en plus de la taille de la bille.
- ✓ Le relargage de métaux provenant de l’élément chauffant continuerait dans le réservoir même si le processus d’aérosolisation a été déjà finalisé.

D'ailleurs, l’analyse de la composition métallique des autres pièces du clearomiseur, sans compter la résistance, a concordé avec les métaux trouvés dans l’aérosol. Cela révèle une certaine contribution au relargage de métaux par ces pièces (voir figure 2.12). Selon Williams et al. (2019), la quantité relative de métal relargué par ces pièces dépendra de son point de fusion, son abondance dans le clearomiseur, une fabrication défectueuse ou sa proximité à l’élément chauffant.

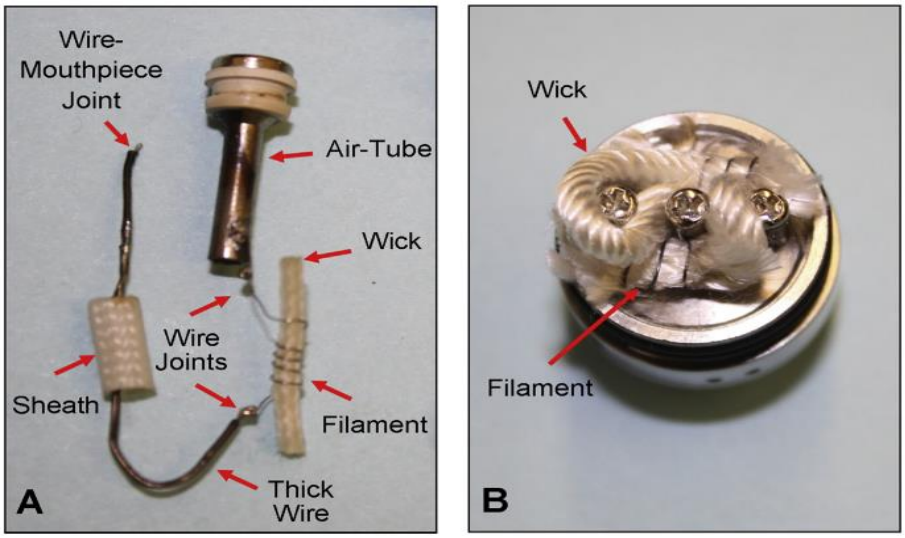

Figure 2.12. Parties de l'atomiseur (A) CÉ de modèle réservoir (B) CÉ de modèle mod (Extrait de Williams et al (2019)).

De plus, durant l'analyse de la teneur de métaux dans l'aérosol de CÉ, quelques éléments étaient repérés tels que du Pb et du sélénium (Se), lesquels ne faisaient pas partie du clearomiseur (Olmedo et al., 2018; Williams et al., 2017; Williams et al., 2013). Une possible explication est que ces éléments seraient introduits pendant le processus de fabrication, ou ont été relargués de pièces différentes, comme l'embout ou les piles (Williams et al., 2019).

2.3.3 Méthodes d'analyse de métaux dans les échantillons de cigarettes électroniques

L'ICP-MS et ICP-EOS sont normalement les techniques d'analyse préférées pour quantifier les concentrations de métaux dans les échantillons des CÉ car ce sont des techniques sensibles et rapides avec une bonne capacité quantitative de multiples éléments (Bansal & Kim, 2016). Cependant, ces techniques présentent des interférences spectroscopiques et non-spectroscopiques. Les interférences spectroscopiques peuvent être corrigées par collision ou par réaction avec un gaz neutre comme l'hélium (He) (Agatemor & Beauchemin, 2011).

En relation aux interférences non-spectroscopiques, aussi nommées « effet matrice », elles seraient accentuées grâce à la phase organique des e-liquides, puisque l'augmentation des niveaux de PG et de GV est associée avec une quantité importante de polyols, des composés organiques qui possèdent plusieurs groupes hydroxyles (Ohashi, 2018), lesquels affecteront l'intensité du signal

de façon croissante ou décroissante selon l'analyte métallique mesuré (p.ex., du Cr, de l'As et du Se) (Beauval et al., 2016). Cela génèrerait des valeurs erronées de concentration de métaux, ce qui a été observé dans la phase liquide (Beauval et al., 2016) autant que dans la phase aérosol (Ohashi, 2018).

À cause du manque de matériaux de référence spécifiques pour les e-liquides, une manière de réduire les effets matrice est de pré-traiter des échantillons soit par digestion acide ou par dilution. Ces deux pré-traitements sont reconnus par le Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac (CORESTA) (Agatemor & Beauchemin, 2011; Joza, 2020).

2.3.4 Présence de métaux dans les échantillons biologiques des utilisateurs de la cigarette électronique

Une étude a analysé la présence de métaux traces tels que du Cu, du molybdène (Mo), du Fe, du Se et du Mn et des métaux des terres rares (MTR) dans les échantillons de sérum sanguin chez des fumeurs, des non-fumeurs et des vapoteurs. Apparemment, les analytes métalliques identifiés chez les vapoteurs viendraient du dispositif de CÉ. Parmi les résultats, il a été observé que les niveaux plus élevés de Se étaient quantifiés chez les vapoteurs (Tableau 2.7). La possible source de Se serait la CÉ, puisque cet élément est normalement employé dans la fabrication des dispositifs électroniques (Tansel, 2017). Cependant, il ne faut pas ignorer que l'alimentation et la consommation d'alcool influencent aussi les niveaux de Se dans l'organisme (Badea et al., 2018).

Tableau 2.7. Concentration de métaux en ng/mL dans le sérum sanguin des non-fumeurs, des fumeurs de cigarette et des vapoteurs (Extrait de Badea et al. (2018))

	Non-smokers (n = 58)		Cigarette smokers (n = 58)		E-cigarette users (n = 34)		
Element[a]	% of detection	Median (p25th–p75th)	% of detection	Median (p25th–p75th)	% of detection	Median (p25th–p75th)	P[b]
Cu (copper)[c]	100.0	611.35 (554.8–686.1)	100.0	961.28 (875.4–1089.9)	100.0	891.45 (798.6–958.2)	0.0001
Fe (iron)	100.0	1182.70 (771.8–1633.9)	100.0	970.74 (710.0–1221.0)	100.0	1150.62 (887.5–1514.8)	0.029
Mn (manganese)	86.2	0.67 (0.60–0.87)	91.4	0.79 (0.65–1.09)	94.1	0.78 (0.58–1.05)	0.145
Mo (molybdenum)	100.0	0.59 (0.47–0.75)	100.0	0.79 (0.65–0.95)	100.0	0.57 (0.40–0.93)	0.0001
Se (selenium)[c]	100.0	65.09 (58.3–76.9)	100.0	81.09 (70.2–92.4)	100.0	87.97 (79.6–95.0)	0.0001
Zn (zinc)[c]	100.0	645.67 (580.4–710.5)	100.0	1048.41 (934.5–1129.6)	100.0	870.75 (780.7–1008.3)	0.0001

Également, les analytes d'argent (Ag) et de vanadium (Va) ont été identifiés chez les vapoteurs ainsi que chez les fumeurs, mais avec une concentration importante chez ces derniers. Ces deux analytes étaient antérieurement trouvés dans l'aérosol de CÉ (Saffari et al., 2014; Williams et al.,

2017) et leur origine serait d'autres parties du clearomiseur tels que les joints de soudure, les fils épais (faits de Cu recouvert d'Ag). Ils arriveraient à la phase aérosol grâce aux températures élevées atteintes par le dispositif (T > 110 °C), ce qui aiderait leur relargage.

Selon le tableau 2.8, à propos des MTR, des analytes tels que le cérium (Ce) et l'erbium (Er) ont été détectés chez les vapoteurs, mais à des niveaux faibles; leur provenance peut aussi être attribuée au dispositif, car des métaux tels que le lanthane (La), un MTR, a été déjà identifié dans la composition des pièces métalliques des CÉ (Williams et al., 2017). Il faut toutefois demeurer prudent dans l'interprétation des résultats de ce genre d'études puisque toute une panoplie de MTR ont été également détectés, parfois en concentration plus importante, chez les non-fumeurs (tableau 2.8).

Tableau 2.8. Concentration des MTR dans le sérum sanguin de non-fumeurs, de fumeurs de cigarette et de vapoteurs en ng/mL (Extrait de Badea et al. (2018)).

	Non-smokers (n = 58)		Cigarette smokers (n = 58)		E-cigarette users (n = 34)		
Element	% of detection	Median (p5th–p95th)	% of detection	Median (p5th–p95th)	% of detection	Median (p5th–p95th)	P[c]
Ce (cerium)	0.0	—	41.4	0.14 (0.10–0.76)	17.6	0.21 (0.17–0.31)	0.058
Dy (dysprosium)	22.4	0.01 (0.01–0.05)	17.2	0.01 (0.01–0.02)	17.6	0.01 (0.01–0.02)	0.553
Er (erbium)	19.0	0.01 (0.01–0.04)	39.7	0.00 (0.00–0.01)	17.6	0.01 (0.00–0.01)	0.0001
Eu (europium)	22.4	0.01 (0.00–0.05)	19.0	0.00 (0.00–0.02)	23.5	0.00 (0.00–0.01)	0.042
Ga (gallium)[a]	1.7	0.12 (0.12–0.12)	37.9	0.09 (0.07–0.15)	0.0	—	0.171
Gd (gadolinium)	25.9	0.01 (0.00–0.05)	48.3	0.01 (0.00–0.03)	35.3	0.01 (0.01–0.21)	0.014
Ho (holmium)	22.4	0.01 (0.00–0.05)	17.2	0.00 (0.00–0.01)	11.8	0.00 (0.00–0.00)	0.001
In (indium)[a]	1.7	0.12 (0.12–0.12)	17.2	0.06 (0.04–0.09)	2.9	0.07 (0.07–0.07)	0.192
La (lanthanum)	0.0	—	12.1	0.14 (0.10–0.32)	14.7	0.12 (0.11–0.22)	0.871
Lu (lutetium)	20.7	0.01 (0.00–0.05)	1.7	0.01 (0.01–0.01)	2.9	0.00 (0.00–0.00)	0.235
Nb (niobium)[a]	0.0	—	3.4	0.12 (0.09–0.16)	2.9	0.21 (0.21–0.21)	0.221
Nd (neodymium)	20.7	0.02 (0.02–0.06)	36.2	0.03 (0.02–0.30)	26.5	0.05 (0.02–0.13)	0.183
Pr (praseodymium)	24.1	0.01 (0.00–0.06)	50.0	0.01 (0.00–0.05)	29.4	0.02 (0.01–0.05)	0.179
Sm (samarium)	8.6	0.01 (0.01–0.04)	46.6	0.01 (0.01–0.05)	14.7	0.02 (0.01–0.03)	0.633
Ta (tantalum)[a]	0.0	—	0.0	—	0.0	—	n.a.
Tb (terbium)	12.1	0.01 (0.01–0.05)	0.0	—	0.0	—	n.a.
Tm (thulium)	22.4	0.01 (0.00–0.05)	17.2	0.00 (0.00–0.00)	8.8	0.00 (0.00–0.00)	0.0001
Y (yttrium)[a]	5.2	0.02 (0.02–0.04)	69.0	0.03 (0.02–0.21)	26.5	0.04 (0.01–0.08)	0.497
Yb (ytterbium)	31.0	0.01 (0.00–0.04)	50.0	0.00 (0.00–0.01)	29.4	0.00 (0.00–0.01)	0.163
Σ lanthanides[b]	53.4	0.02 (0.00–0.36)	89.6	0.06 (0.00–0.81)	52.9	0.03 (0.00–0.70)	0.172

Les habitudes d'utilisation des CÉ contribueraient aussi à l'exposition aux métaux. Des niveaux élevés de Ni dans l'urine seraient le résultat d'un remplacement fréquent de l'élément chauffant (≥ 3 fois par mois), chez les utilisateurs qui ont signalé un temps plus court pour la première vape à partir du réveil et chez ceux ayant des niveaux de Ni plus élevés dans les échantillons d'aérosols prélevés sur leurs CÉ (Aherrera et al., 2017). De plus, les vapoteurs quotidiens avaient des niveaux

urinaires de Pb et de strontium (Sr) significativement plus élevés que ceux des vapoteurs occasionnels (quelques jours par semaine) (Goniewicz et al., 2018).

L'air expiré des vapoteurs a été condensé et analysé, les résultats montraient la présence de Ni (1,25 µg/L) et de Cr (0,29 µg/L). Les valeurs recueillies pourraient démontrer l'absorption de ces métaux dans l'aérosol par les utilisateurs.

Malgré les études qui montrent une absorption de métaux par les vapoteurs à cause de l'utilisation de CÉ, les niveaux quantifiés demeurent inférieurs à ceux mesurés chez les fumeurs du tabac; ce fait s'applique aussi à d'autres sous-produits du tabac comme les carbonyles ou les nitrosamines.

2.4. Potentiel oxydatif

2.4.1. Fluides pulmonaires synthétiques

Le dépôt de l'aérosol inhalé dans le système respiratoire est un processus soumis aux propriétés physico-chimiques des particules, spécifiquement de la solubilité de l'aérosol, de l'anatomie pulmonaire et des schémas respiratoires du sujet (Majid & Madl, 2011). Les aérosols de CÉ sont hydrosolubles, donc ils pourraient facilement se solubiliser dans les liquides de revêtement épithélial (LRÉ) (Scheffler et al., 2015).

Les LRÉ couvrent les cellules épithéliales de l'appareil respiratoire en jouant le rôle de barrière biologique contre les polluants environnementaux inhalés (p.ex., la fumée de tabac, l'ozone). Dans leur composition se retrouvent des enzymes antioxydantes (c.-à-d. la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase), des protéines (c.-à-d. la lactoferrine, la transferrine et la céruloplasmine) (Hatch, 1992) et également des antioxydants de faible masse moléculaire (c.-à-d. l'AA, l'urate et le glutathion), lesquels protègent de possibles lésions oxydatives (van der Vliet et al., 1999).

Afin d'imiter les conditions des LRÉ, l'utilisation des fluides pulmonaires synthétiques (FPS) est suggérée comme un substitut dans le cadre d'une quantification fiable du PO ainsi que de la solubilité des polluants ou d'un test de bioaccessibilité et pour éviter des inconvénients éthiques liés aux tests in vivo. L'appareil respiratoire est divisé en différentes zones bien différenciées donc la composition de LRÉ est variable selon le niveau du tract respiratoire. C'est la raison pour laquelle il est compréhensible que différentes formules des FPS puissent être employées dans les tests in

vitro pour estimer la bioaccessibilité pulmonaire. Parmi la panoplie de FPS développés, ceux-ci ont de légères variations, les deux types principaux de FPS : la solution de Gamble (SG) et le fluide lysosomal artificiel (FLA) (Kastury et al., 2017). Ces solutions aqueuses sont composées des protéines et d'antioxydants qui permettent d'imiter leurs homologues humains (Stopford et al., 2003).

Le FLA représente les lysosomes des macrophages alvéolaires, alors ce fluide imite les conditions acides, avec une valeur de pH égal à 4,5 – 5 (Stopford et al., 2003), établi lors de la phagocytose des MP dans la région alvéolaire. En considérant que les particules MP_5 ont plus de chances de se faire phagocyter, l'usage de FLA est théoriquement plus convenable aux particules de ce diamètre granulométrique (Gosselin, 2019; Gosselin et Zagury, 2020).

La SG simule la région extracellulaire du poumon profond et garde un pH neutre égal à 7,4. De plus, la SG intervient comme la liaison entre le compartiment vasculaire et les cellules tissulaires, permettant la régulation des paramètres physico-chimiques (p.ex., pH, pression osmotique) dans le corps humain ainsi que le transfert des nutriments et des déchets (Gamble, 1941). Au niveau pulmonaire, la SG représente l'homologue du liquide interstitiel retrouvé dans les régions trachéobronchique et alvéolaire profonde (Gosselin, 2019). Lors de la quantification du PO, la SG serait utilisée grâce à la présence des antioxydants comme l'ascorbate dans sa composition.

2.4.2. Définition et mécanisme du potentiel oxydatif

Le PO est la mesure de la capacité d'un composant d'oxyder les substances antioxydantes qui forment les fluides pulmonaires, en générant des ÉRO (Bates et al., 2019). Les ÉRO sont de composants hautement réactifs formés à base d'oxygène et peuvent avoir des électrons non appariés. Parmi le groupe d'ÉRO se trouvent les molécules de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical superoxyde (^{-}OH) et le radical hydroxyde (O_2^{-}).

Les ÉRO peuvent être générés par des sources endogènes et exogènes. Dans le corps humain, le métabolisme cellulaire donne lieu à la formation d'ÉRO mais à un faible niveau. De plus, les ÉRO jouent un rôle primordial dans les processus de signalisation et de régulation de la cellule, en protégeant contre les agents environnementaux (Birben et al., 2012; Pöschl & Shiraiwa, 2015). Au niveau des voies respiratoires, celles-ci se retrouvent couvertes dès la cavité nasale jusqu'aux alvéoles par les LRÉ, capables de bloquer les effets nocifs des ÉRO.

Des facteurs exogènes tels que les MP ou la fumée de cigarette sont également des producteurs d'ÉRO lorsqu'ils rentrent en contact avec l'environnement pulmonaire. La fumée de cigarette est décrite comme un aérosol comportant des oxydants, des radicaux libres et des composés organiques (Birben et al., 2012). Dans cet aérosol, les radicaux libres se trouvent dans la phase gazeuse ainsi que dans la phase solide, laquelle est connue comme goudron. Chaque cigarette peut produire jusqu'à 20 mg de goudron qui détient une concentration élevée de radicaux libres et stables (10^{17} spings. g^{-1}) (Valavanidis et al., 2009), en plus de 6 000 composés organiques et des particules fines et ultra fines (0,1-1,0 µm) capables d'atteindre la région alvéolaire (Halliwell & Poulsen, 2006). Dans le milieu des fluides pulmonaires, le goudron produira des ÉRO à cause de ses radicaux libres tels que la semi quinone (QH-) (Pryor, 1992). Par le mécanisme de réaction du système quinone/semi quinone/hydroquinone ($Q/QH^-/QH_2$) dans le goudron (Pryor et al., 1983), le radical QH^- donne la place aux ions O_2^- par réduction des molécules de O_2 et H_2O_2 par réaction avec les ions H^+. Il faut aussi souligner que le goudron possède des niveaux remarquables de Fe^{2+} qui par la réaction de Fenton produira aussi des radicaux ^-OH. Ce mécanisme de réaction est expliqué dans la figure 2.13

$$Q + QH_2 \leftrightarrows 2\,QH^{\bullet}$$
$$QH^{\bullet} + O_2 \rightarrow Q + O_2^{\bullet-} + H+$$
$$O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$
$$QH_2 + O_2 \rightarrow H_2O_2 + Q$$
$$QH_2 + O_2 \rightarrow O_2^{\bullet-} + QH^{\bullet} + H^+$$
$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\bullet} + HO^-$$

Figure 2.13. Mécanisme de réaction de formation d'espèces réactives de l'oxygène (Extrait de Valavanidis et al. (2009))

En outre, la contribution de la phase gazeuse n'est pas négligeable puisque les radicaux libres et les oxydants présents sont en réaction continue, ce qui augmente leur concentration à mesure que la fumée vieillit (Church & Pryor, 1985). Également, la présence de métaux traces dans la fumée de cigarette tels que le Cu, le Ni, le Cr, le Pb, le Cd et le mercure (Hg) participent à la formation d'ÉRO soit comme catalyseurs de réactions redox (Chen & Lippmann, 2009) ou par la réduction de l'activité des enzymes antioxydants (Halliwell & Poulsen, 2006).

Bien que les antioxydants (p.ex., l'AA, l'acide urique [AU], le glutathion [GSH]) dans les LRÉ et les mucus des poumons bloquent l'effet nocif des ÉRO, la condensation de la fumée dans les LRÉ permet une formation prolongée d'ÉRO (Calverley & Georgopoulos, 2006) en détruisant les antioxydants endogènes et en réduisant les mécanismes biologiques supplémentaires de production d'antioxydants (Birben et al., 2012; Valavanidis et al., 2009).

La mesure de PO devient importante étant donné la déplétion exacerbée des antioxydants causée par la concentration remarquable d'ÉRO donc, l'organisme n'est pas en mesure de rétablir l'homéostasie pulmonaire en produisant un stress oxydatif. Par conséquent, ce stress, au niveau cellulaire, mène à la peroxydation lipidique et des protéines, l'altération chimique de l'ADN et l'apoptose de la cellule (Baulig et al., 2003; Donaldson et al., 2001; Li et al., 2003). Au niveau pulmonaire, cependant, selon les recherches, le stress oxydatif entraîne des processus pathologiques qui contribuent à divers types de cancer (Reuter et al., 2010), la MPOC (Rahman & Adcock, 2006), à l'athérosclérose (Ying et al., 2009) et à l'asthme (Delfino et al., 2013; Fitzpatrick et al., 2009). Le processus de stress oxydatif de la fumée du tabac est présenté à la figure 2.14.

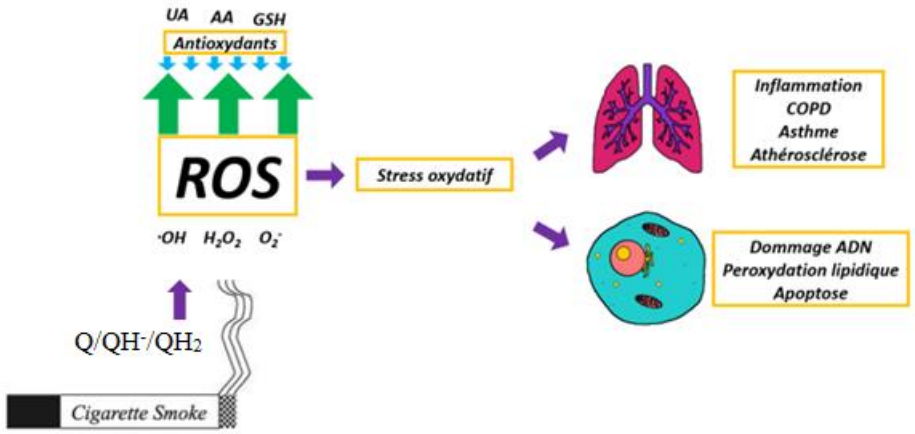

Figure 2.14. Représentation du processus de stress oxydatif généré par la fumée de tabac (Adapté de Gosselin (2019)).

Les niveaux d'antioxydants sont plus faibles chez les fumeurs ainsi que chez les personnes asthmatiques, ce qui les rend substantiellement sensibles aux effets de la fumée de cigarette. Une façon de combler ce manque serait à travers l'utilisation d'antioxydants comme des compléments alimentaires, mais malheureusement les études prouvent que leur absorption est limitée (Hennekens et al., 1996; Priemé et al., 1997).

Les études in vitro indiquent que l'aérosol des CÉ est moins nocif comparé à la fumée du tabac, ce qui est dû à la formulation simple des e-liquides et l'absence de phénomènes de combustion dans les CÉ. Certaines études insistent sur la présence limitée de substances chimiques de faible concentration (p.ex., carbonyles, nitrosamines spécifiques au tabac, métaux) (Margham et al., 2016). Néanmoins, les températures atteintes par les différents modèles des dispositifs peuvent varier la concentration de certains sous-produits, spécifiquement des carbonyles, si l'apport de e-liquide vers l'atomiseur est insuffisant (bouffée sèche). Par ailleurs, la formation de radicaux libres dans l'aérosol des CÉ a été mise en évidence (Bitzer et al., 2018), ce qui pourrait signifier un risque possible de stress oxydatif. La réalisation d'études in vitro et in vivo serait nécessaire afin de déterminer la charge de PO d'origine par l'aérosol des CÉ et si ceci est capable de causer des lésions au niveau pulmonaire.

2.4.3. Potentiel oxydatif généré par l'aérosol de la cigarette électronique

La formulation des e-liquides, soit à base de PG et/ou de GV, la concentration de nicotine, la présence d'arômes et les paramètres de vaporisation sont des facteurs qui pourraient théoriquement contribuer à la formation d'ÉRO dans l'aérosol des CÉ (Son et al., 2019).

L'aérosol produit par des e-liquides avec arômes détient un niveau de radicaux libres plus important par rapport à l'aérosol provenant des e-liquides sans arômes, car la dégradation thermique des arômes mène à la production de radicaux libres et de substances redox (Son et al., 2019). Lors de l'étude de Bitzer et al. (2018), il a été trouvé que parmi les échantillons évalués dans un milieu de 60:40 PG:GV, 43 % des arômes favorisaient la production de radicaux libres. Plus précisément, les arômes suivants ont montré une génération de radicaux libres dépendante de la concentration : le linalol, le dipentène, le pipéronal, l'éthyl maltol, le citral δ-tétradécalactone et ϒ-décalactone. En revanche, la génération de radicaux semblait être bloquée par l'ajout d'éthylvanilline et de ß-damascone, ce qui aurait un effet favorable en relation à la santé des utilisateurs.

L'éthylvanilline et la vanilline sont utilisées comme des additifs qui donnent un arôme à la vanille dans les aliments et les boissons. Leurs propriétés antioxydantes sont associées à la présence du groupe aldéhyde dans leur structure; selon les études in vitro et in vivo, celui-ci jouerait un rôle d'inhibiteur de radicaux (Tai et al., 2011). Le ß-damascone, responsable des arômes floraux, est aussi connu pour être un nucléophile capable de donner ses électrons aux espèces électrophiles comme les radicaux (réaction de Michael) (Mueller et al., 2013).

Les e-liquides à base de GV et de PG:GV atteignent des concentrations de $^{\cdot}OH$ égales à 1,7 et 1,9 fois supérieures aux liquides à base de PG seulement (Lerner et al., 2015; Son et al., 2019). Une possible explication est liée aux réactions d'oxydation du PG, de la GV et les sous-produits générés. Les températures à atteindre pour l'oxydation du PG et de la GV sont 200 °C et 127 °C respectivement; donc chauffeur un mélange de PG :VG, impliquerait que l'oxydation de la GV est incomplète (Son et al., 2019), ce qui permettrait la formation d'une quantité importante de produits intermédiaires (c.-à-d. des radicaux) par ce dernier.

Dans la structure moléculaire de la nicotine, il se trouve des sites nucléophiles qui peuvent neutraliser les radicaux (Halliwell & Gutteridge, 2015), mais le potentiel rédox de la nicotine permettrait aussi la formation d'ÉRO (Yardim & En, 2011). Donc, cette particularité permet d'atteindre de divers niveaux d'ÉRO, lorsque la nicotine interagit avec les composants (tels que le PG et/ou la GV et les sous-produits de dégradation thermique) existants dans l'aérosol. Son et al. (2019) ont observé que la concentration d'ÉRO atteinte par un e-liquide avec 36 mg/mL de nicotine dans un milieu de GV était 2,3 fois supérieur à celui dans un milieu de PG avec la même teneur de nicotine.

D'autres facteurs qui influencent la génération des ÉRO sont la tension appliquée dans le dispositif et le volume de la bouffée. Les valeurs élevées de tension se traduisent en les valeurs de températures élevées et une augmentation dans le volume de bouffée pour permettre un débit d'oxygène important, ce qui bénéficiera l'oxydation du PG et de la GV lors du vapotage. Quand l'élément chauffant atteint des températures égales à 200-300 °C, l'oxydation de la GV est thermodynamiquement favorisée (Son et al., 2019); de plus, l'interaction des produits d'oxydation tels que le H_2, le CO_2, le H_2O, les radicaux et les autres substances dans l'aérosol favoriseraient aussi la formation d'ÉRO (Halliwell & Gutteridge, 2015). Ce dernier est représenté dans les réactions suivantes :

$$C_3H_8O_3 + 3/2O_2 \rightarrow 3CO_2 + 4H_2$$

$$C_3H_8O_3 + 7/2O_2 \rightarrow 3CO_2 + 4H_2O$$

$$C_3H_8O_3 \rightarrow {}^{\cdot}OHR + H$$

Figure 2.15. Formation d'espèces réactives de l'oxygène à partir de l'oxydation de la glycérine végétale (Extrait de Son et al. (2019)).

Une étude in vitro a montré que l'aérosol de CÉ généré avec une valeur de tension très élevée (4,5 V) réduisait encore plus le nombre de cellules myocardiques saines (test de viabilité cellulaire) après une exposition de 24 h, par rapport à l'aérosol généré avec un dispositif de CÉ à 3,7 V (Farsalinos et al., 2013). Par ailleurs, malgré que les mécanismes ne soient pas encore clarifiés, des radicaux libres ont été également identifiés par le spectroscope par résonance paramagnétique électronique (RPE) dans la condition de bouffée sèche (Goel et al., 2015).

Les radicaux libres et les métaux présentés dans l'aérosol réagissent avec l'AA ($AscH_2$) qui est l'antioxydant le plus abondant dans les LRÉ. Le $AscH_2$ réduit les radicaux de l'aérosol (R^-), puis R^- formera des molécules de O_2^- (Son et al., 2019). Cette ÉRO agit comme pionnière dans la formation des autres radicaux tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical superoxyde (^-OH) par des réactions redox (Lakey et al., 2016). Par ailleurs, les métaux traces dans l'aérosol de CÉ et ceux dans les LRÉ (Ayres et al., 2008) tels que Fe^{+3} peuvent former des ÉRO où le radical dans l'aérosol donne un électron au Fe^{+3} en devenant Fe^{+2}; par la suite, la forme réduite Fe^{+2} créera des ÉRO par la réaction de Fenton (Ayres et al., 2008; Son et al., 2015). Le graphique suivant montre les deux processus.

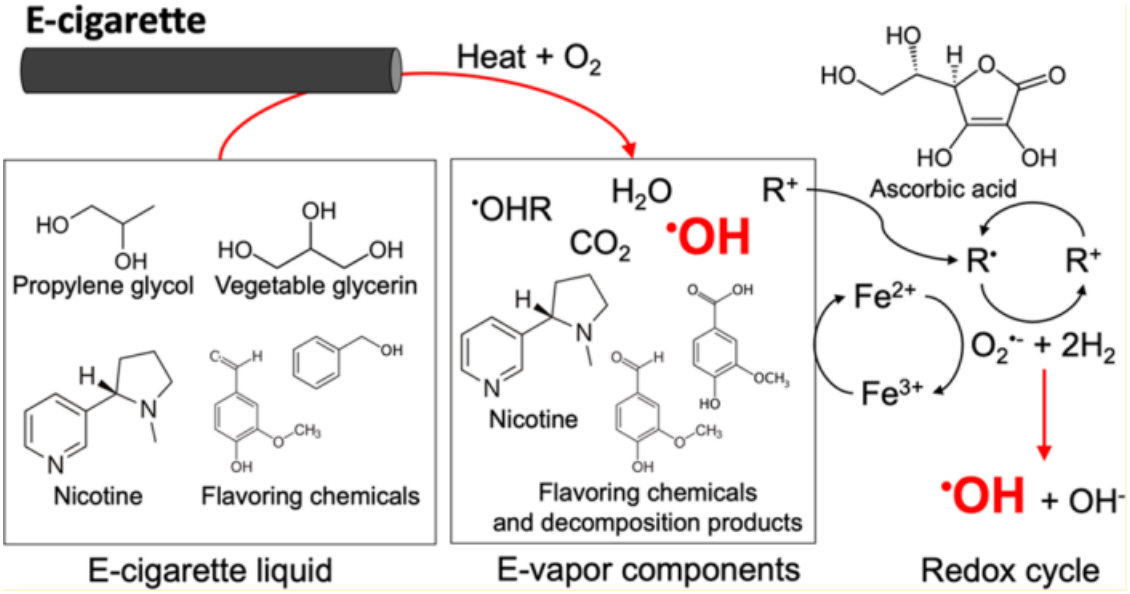

Figure 2.16. Mécanismes de formation d'espèces réactives de l'oxygène dans l'aérosol des cigarettes électroniques (Extrait de Son et al. (2019)).

Bien que l'existence de radicaux libres soit confirmée dans l'aérosol des CÉ, la concentration atteinte par celles-ci est bien inférieure à celle de la cigarette conventionnelle (10 – 1 000 fois) (Goel et al., 2015; Lerner et al., 2015; Son et al., 2019)).

Jusqu'à maintenant, les tests in vitro et in vivo liés à l'évaluation du PO généré par l'aérosol des CÉ sont très limités. L'exposition des LRÉ des souris aux extraits de CÉ produisaient la déplétion de glutathion (Lerner et al., 2015), de la réponse pro-inflammatoire de tissus pulmonaires (interleukines IL-6 et IL-8) et de l'altération des mécanismes de clairance bactérienne pulmonaire (Miyashita et al., 2018; Sussan et al., 2015). Dans ces études, les preuves de stress oxydatif étaient observées après une période d'incubation d'environ ou supérieur à 24 h aux aérosols des e-liquides, ce qui suggérerait une évaluation de longue durée lors de la quantification du PO par CÉ.

Lors de l'étude de Taylor et al. (2016), aucune déplétion de glutathion, ni mort de cellules ni formation d'ÉRO était contemplée après l'incubation de cellules épithéliales bronchiques humaines (NCI-H292) avec les extraits d'aérosol de CÉ pendant 6 h. En revanche, Miyashita et al. (2018) étaient capables de mesurer le PO du fluide synthétique de revêtement des voies respiratoires humaines (composé du glutathion et de l'AA) après une incubation de 4 h. Il faut considérer que le manque de protocoles avec des paramètres standardisés pour l'évaluation d'ÉRO (c.-à-d., des topographies de vaporisation, la composition des e-liquides, des valeurs de tension appliquées, etc.) (Son et al., 2019) pourrait expliquer les différences entre ces deux études.

2.5. Autres sous-produits générés lors du processus d'aérosolisation dans les cigarettes électroniques

2.5.1. *Les matières particulaires (MP)*

Les MP présentes dans les aérosols sont capables de pénétrer profondément le système respiratoire et les membranes cellulaires (Unfried et al., 2007), puis de passer des voies respiratoires à la circulation sanguine (Schins et al., 2004; Weichenthal, 2012). Leur passage dans la circulation sanguine leur permet de se déposer dans les organes secondaires (Semmler et al., 2004), ainsi que de transporter les composés toxiques (Nygaard et al., 2004; Schmid et al., 2009). Ce fait rend l'exposition aux aérosols préjudiciables pour la santé.

Il a été constaté que, comme les cigarettes conventionnelles, les CÉ produisent des MP (Pellegrino et al., 2012; Schober et al., 2014). En fait, il existe quelques similitudes parmi ces deux types de MP, tels que la concentration moyenne en particules produites par la CÉ, laquelle est environ 4,4 ± 0,4E9 particules/cm^3, tandis que celle de la cigarette régulière est égale à 3,1 ± 0,6E9 particules/cm^3 (Fuoco et al., 2014). De plus, le diamètre des particules oscille entre 280 et 1 420 nm, ce qui les rend partie de la fraction respirable dans les voies respiratoires (Alderman et al., 2015). Néanmoins, il serait erroné de considérer que les risques sur la santé à cause d'une exposition à long terme des deux aérosols seraient identiques à cause des similitudes mentionnées.

En effet, des études ont prouvé que la production de MP provenant des CÉ est mineure et moins nuisible, en comparaison aux MP de la cigarette conventionnelle, grâce à leur composition et à l'absence du phénomène de combustion qui libère du goudron, du monoxyde de carbone, des produits de combustion et d'autres produits chimiques (plus de 4 000 substances, dont certaines se sont avérées toxiques et cancérigènes) (Kuehn, 2009; Logue et al., 2017; Pellegrino et al., 2012).

Pellegrino et al. (2012) ont évalué l'augmentation dans les niveaux de particules fines produites par les CÉ et les cigarettes traditionnelles (Tableau 2.9). Les résultats obtenus dans les deux cas ont signalé que les niveaux de MP_{10} et $MP_{2,5}$ dépassaient les valeurs limites de qualité de l'air établies par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) (50 et 25 µg/m^3 pour MP_{10} et $MP_{2,5}$). Cependant l'écart entre les MP provenant des CÉ et les valeurs standards était beaucoup faible. Par ailleurs, les émissions de MP des cigarettes conventionnelles étaient 15 fois supérieures à celles produites par les CÉ (Pellegrino et al., 2012). L'étude a également mentionné que les MP des CÉ étaient principalement composées de PG et de GV (≤90%).

Tableau 2.9. Émissions de matières particulaires selon leur taille (matière particulaire totale en suspension, MPT, de taille $MP_{10;7;2,5;1}$) au temps zéro (T0), après 1,5 min (T1) et après 3 min (T2) d'usage de CÉ et de la cigarette conventionnelle (Extrait de Pellegrino et al. (2012))

	e-cigarette			Conventional cigarette			Density ratio conventional/e-cigarettes
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T2
MP_{1} µg/m^3	1	0	14	0	42	80	6
$MP_{2.5}$ µg/m^3	2	3	43	3	281	901	21
MP_{7} µg/m^3	4	8	50	5	291	919	18
MP_{10} µg/m^3	6	10	52	7	293	922	18
MPT µg/m^3	13	17	63	16	305	933	15

La composition des MP des CÉ n'a aucun lien avec les microparticules présentes dans la fumée de cigarette conventionnelle et non plus avec celles créées par les activités anthropiques. Par contre, la nature de ces MP fait qu'elles sont plus associées avec les composants des e-liquides où les particules se trouvent saturées en PG et en GV, puisque ceux-ci sont souvent les composants majoritaires (Farsalinos & Voudris, 2014) tandis que les composants restants sont de quantité inférieure (s'il y a de la nicotine, 0.25%, arômes et sous-produits,0.1%).

Les paramètres qui influencent la concentration des MP provenant des CÉ pourraient être la présence de nicotine qui augmente la concentration de MP et la durée de la bouffée, laquelle est liée avec un temps de chauffage de l'élément chauffant plus prolongé donc plus de liquide sera vaporisé (Fuoco et al., 2014).

La qualité de l'air dans un espace clos est impactée par l'usage de la CÉ en affectant les non-vapoteurs qui se trouvent au même endroit. Cette action est connue comme vapotage passif ou exposition secondaire à l'aérosol de CÉ, qui est produit, quel que soit le type de dispositif (Protano et al., 2018). Toutefois, selon l'agence de santé publique de l'Angleterre il n'y a pas de preuve à ce jour que le vapotage passif soit nocif. En relation au volume dégagé et à l'intensité de l'exposition secondaire d'aérosol et des MP dans une CÉ, ce phénomène est considéré comme non problématique contrairement au tabagisme passif. Ce dernier est composé à 80 % de la fumée qui est dégagée suite à la combustion de la cigarette allumée (fumée secondaire) et d'un pourcentage mineur de fumée exhalée par le fumeur (Vautrot, 2016), tandis que le vapotage passif se produit uniquement lorsque le vapoteur déclenche la CÉ puisque la fumée secondaire n'existe pas.

Présentement, les études dédiées aux effets nocifs sur la santé à cause d'une exposition secondaire aux MP des CÉ sont limitées. Pour l'instant, nous savons que si le nombre de vapoteurs dans un espace clos augmente, la quantité de MP, de nicotine dans l'air et de COV est également augmentée, en altérant très légèrement la qualité de l'air (Chen et al., 2018; Logue et al., 2017; Soule et al., 2017).

2.5.2 *Nitrosamines spécifiques au tabac*

Les nitrosamines spécifiques au tabac (NAST) sont de substances cancérogènes (Hecht, 1998; Hecht & Hoffmann, 1988) dérivées du tabac. Elles sont formées pendant le séchage, la fermentation et le vieillissement du tabac par la nitrosation d'amines (Eaton et al., 2018; Famele et

al., 2015) et se retrouvent dans la fumée de cigarette. En relation aux e-liquides, certaines traces de NAST ont été détectées dans quelques liquides comme un résidu généré du processus d'extraction de la nicotine des feuilles de tabac (Famele et al., 2015; Kim & Shin, 2013; Vautrot, 2016). Leur présence dans les e-liquides de la CÉ est comparable à celle retrouvée dans les substituts nicotiniques médicamenteux (p.ex., patchs) (Tableau 2.10).

Tableau 2.10. Concentration de nitrosamines spécifiques au tabac retrouvées dans les produits avec nicotine (Extrait de Delrieu et al. (2013))

Produit	**Nitrosamines totales retrouvées (en ng/g)**
E-cigarette	8,18
Gommes	2
Patchs	8
Winston®	3365
Camel®	7450
Marlboro®	11190

Étant donné que des traces de NAST peuvent être présentes dans certains e-liquides de recharge, il est important de les quantifier dans l'aérosol sous conditions de vapotage afin de vérifier une possible variation dans leur concentration. Selon les données recueilles lors des études de NAST en aérosol, celles-ci se retrouvent en quantités faibles, ce qui est principalement attribuable à l'utilisation de nicotine de haute pureté dans la fabrication des e-liquides. En outre, il a été démontré que les concentrations de NAST provenant de l'aérosol des CÉ sont très inférieures en comparaison à celles quantifiées dans la fumée de cigarette.

Farsalinos et al. (2015) ont mené une étude pour comparer les niveaux quantifiés de NAST dans les e-liquides avec leurs quantités respectives dans les aérosols générés. En utilisant des échantillons enrichis contenant des concentrations connues d'étalons de NAST, il a été démontré que les niveaux présents dans l'e-liquide sont assez similaires à ceux quantifiés dans l'aérosol.

Goniewicz et al. (2014) ont détecté les composés de N'-nitrosonornicotine (NNN) et de 4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) dans les aérosols produits à partir de 12 modèles différents de CÉ en utilisant un régime de vapotage standard. Ces composés font partie du

groupe 1 de cancérogènes selon la classification du Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC); cependant, il faut mentionner que leurs intervalles de concentration étaient de 0,8 à 4,3 ng/150 bouffées pour NNN et de 1,1 à 28,3 ng/150 bouffées pour NNK. Ces niveaux de nitrosamine dans les aérosols des CÉ étaient 380 et 40 fois inférieurs par rapport aux teneurs de NNN et NNK retrouvées dans la fumée de 10 cigarettes conventionnelles (150 bouffées de CÉ équivalent à 10 cigarettes fumées).

2.5.3 *Les carbonyles*

Les carbonyles sont créés par la dégradation thermique du PG et de la GV (Khlystov & Samburova, 2016) pendant le processus d'aérosolisation du e-liquide. Les études indiquent que les carbonyles sont le résultat de l'oxydation du PG et de la GV lorsque ceux-ci sont mis en contact avec l'élément chauffant en présence d'oxygène environnant (Figure 2.11) (Ohta et al., 2011; Uchiyama et al., 2013). La plupart des composés carbonyles retrouvés dans l'aérosol de CÉ sont : l'acétaldéhyde, le formaldéhyde, l'acroléine, le méthylglyoxal et le glyoxal (Bekki et al., 2014; Sleiman et al., 2016; Vautrot, 2016), lesquels sont de substances dangereuses avec de multiples effets sur la santé. Le formaldéhyde fait partie du groupe 1 de cancérogènes (IARC, 2004), l'acétaldéhyde est classifié comme un possible cancérogène pour l'homme (groupe 2B) (U.S.EPA, 2000a), tandis que l'acroléine est un irritant de la cavité nasale et capable d'endommager la muqueuse des poumons (Health Canada, 2021)

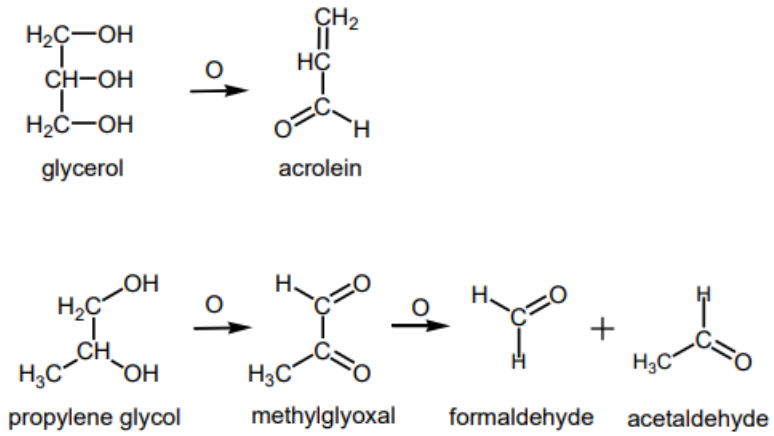

Figure 2.17. Réactions d'oxydation du propylène glycol et de la glycérine végétale et ses sous-produits générés (Extrait de Ohta et al. (2011)).

Au moment de statuer si les concentrations de carbonyles atteintes par la CÉ dépassent ou non les niveaux produits par la cigarette conventionnelle, les chercheurs ont des points de vue opposés. Certaines études démontrent que les niveaux de carbonyles provenant des CÉ sont inférieurs en relation à la cigarette au tabac (Blair et al., 2015; Goniewicz et al., 2014; Papousek et al., 2014; Uchiyama et al., 2010; Uchiyama et al., 2013), tandis que d'autres études soutiennent que les niveaux sont comparables ou supérieurs (Hutzler et al., 2014; Sleiman et al., 2016).

Les niveaux de carbonyles produits dépendront de la tension appliquée (Bekki et al., 2014; Uchiyama et al., 2013) et de la présence de certains arômes dans le liquide (Khlystov & Samburova, 2016).

Kosmider et al. (2014) ont confirmé que les concentrations d'acétaldéhyde et de formaldéhyde ont augmenté lorsque la tension appliquée dans le dispositif était augmentée. À une tension égale à 3,2 V, les niveaux quantifiés de formaldéhyde et d'acétaldéhyde étaient 13 et 807 fois en dessous des niveaux enregistrés dans la fumée du tabac. Cependant, l'application d'un voltage de 4,8 V a généré des niveaux de formaldéhyde et d'acétaldéhyde égaux à 4 – 200 fois plus élevées que les niveaux quantifiés à 3,2 V. Ces résultats sont appuyés par Bekki et al. (2014) et Ohta et al. (2011) qui ont observé une augmentation considérable des niveaux de carbonyles avec un voltage de 3 V. Donc, il est probable que les dispositifs de CÉ avec des piles de 4 à 5 V pourraient produire des niveaux considérables de carbonyles.

Il est important de signaler qu'une tension importante appliquée permettra à l'élément chauffant d'atteindre des températures élevées, en plus d'une consommation importante d'e-liquide par bouffée. Donc, si le volume de liquide dans le réservoir n'est pas assez pour imbiber adéquatement la mèche qui se retrouve autour de l'élément chauffant, ceci causera le phénomène de bouffée sèche, ce qui mènera l'utilisateur à cesser de vapoter. Ce phénomène a été déjà associé avec l'augmentation significative des niveaux de carbonyles dans l'aérosol de CÉ (Farsalinos et al., 2017). En fait Farsalinos & Gillman (2018) ont été capables de reproduire les conditions expérimentales de Sleiman et al. (2016) et Hutzler et al. (2014), démontrant la présence de bouffée sèche dans leur déroulement expérimental. Selon Farsalinos et Gillman (2018), tant que l'apport de liquide est adéquat pour garder la mèche imbibée, les niveaux de carbonyles resteront assez faibles.

En comparaison au niveau de carbonyles engendrés par les e-liquides avec et sans arômes, il a été mis en évidence que la dégradation thermique des composés qui forment les arômes augmente la concentration de carbonyles. Par exemple, les e-liquides avec arômes génèrent jusqu'à 1 000 fois plus de carbonyles par rapport aux e-liquides sans arômes (Khlystov & Samburova, 2016). En outre, les données montrent une relation exponentielle entre la production de carbonyles et la concentration d'arômes (Khlystov & Samburova, 2016).

2.6. Règlementation

Au Canada, le projet de loi S-5 encadre la règlementation des CÉ. Le projet de loi S-5 a été promulgué pour modifier la Loi sur le tabac et la Loi sur la santé des non-fumeurs, également pour apporter des modifications à la Loi sur les aliments et drogues (LAD) et à la Loi canadienne sur la sécurité des produits de consommation (LSCPC) (Health Canada, 2017a; Parliament of Canada, 2018). Le 23 mai 2018, le projet de loi S-5 est devenu la Loi sur le tabac et les produits de vapotage (LTPV) en réponse au rapport intitulé « Vapotage : Vers un cadre réglementaire pour les cigarettes électroniques » qui a été publié par le Comité permanent de la santé de la Chambre des communes.

La LTPV établit le cadre réglementaire pour la distribution des produits de vapotage sur le marché canadien. Cette loi définit les « produits de vapotage » comme étant les différents types d'appareils disponibles qui génèrent une émission d'aérosol qui est inhalée à travers la bouche de l'utilisateur et normalement connus sous le nom de CÉ (Health Canada, 2017a). Cette définition contient également toutes les pièces qui doivent être utilisées avec de tels dispositifs et tous les e-liquides qui peuvent ou non contenir de la nicotine. La LTPV cherche à mettre l'accent sur quatre objectifs de santé publique (Health Canada, 2017b):

- Empêcher les jeunes canadiens de moins de 18 ans d'avoir accès aux produits du tabac et de vapotage.
- Offrir aux adultes, plus précisément aux fumeurs adultes, un accès légal aux produits de vapotage comme alternative à l'usage traditionnel du tabac.
- Fournir aux produits de vapotages commercialisés à des fins thérapeutiques une voie par laquelle ils peuvent accéder au marché.

- Concernant les produits du vapotage commercialisés à des fins non thérapeutiques, mettre en œuvre les mécanismes d'évaluation des risques pour protéger la santé et la sécurité humaine des possibles effets sur la santé causés par l'utilisation de CÉ.

Pour éviter l'association des produits de vapotage avec un effet positif sur la santé, la LTPV interdit l'utilisation des ingrédients suivants dans la formulation des liquides de vapotage : les acides aminés, la caféine, les colorants, les acides gras essentiels, le glucuronolactone, les probiotiques, la taurine, les vitamines et les nutriments minéraux (Health Canada, 2018b; Minister of Justice, 2018). En vertu de la LTPV, Santé Canada peut adopter des règles additionnelles à mesure qu'elles deviennent pertinentes pour l'industrie.

Les produits de vapotage commercialisés à des fins non thérapeutiques sont aussi visés par la LCSPC, la LTPV et le Règlement sur l'étiquetage et l'emballage des produits de vapotage (REEPV) (Health Canada, 2017a). La LAD s'applique aux produits de vapotage qui font une allégation de santé et qui reçoivent l'autorisation de Santé Canada pour cet effet (Health Canada, 2018b)

La LCSPC réglemente les exigences en matière de santé et sécurité pour les produits de consommation et met à la disposition de Santé Canada le pouvoir d'effectuer des inspections et d'exiger des rappels de produits. Les exigences supplémentaires de cette loi comprennent la tenue des registres de production et le signalement obligatoire de tout incident de santé ou de sécurité.

Par ailleurs, à cause de la progression du vapotage chez les jeunes adultes au Canada et pour éviter le développement d'une dépendance et le risque d'usage du tabac, le 19 juin 2021, la LTPV a été mise à jour à nouveau, exclusivement dans les annexes 2 et 3 liées aux arômes. Cette récente modification de LTPV, qui n'est pas encore en vigueur, prévoit les éléments suivants (Government of Canada, 2021a, 2021b):

- Limiter la promotion des arômes dans les produits de vapotage, en laissant le tabac, la menthe et le menthol ou la combinaison de ces deux derniers (menthe/menthol) comme les seules options autorisées.

- Interdire progressivement tous les sucres, les édulcorants et les composés aromatisants, sauf les composés nécessaires pour produire les futurs arômes autorisés.

- Mettre en œuvre des règlements pour délimiter les propriétés sensorielles afin d'éviter d'autres perceptions sensorielles que celles propres au tabac ou à la menthe/menthol.

De plus, pour freiner l'augmentation du vapotage parmi la jeunesse, Santé Canada ajoute le Règlement sur la promotion des produits de vapotage (RPPV) et le Règlement sur la concentration en nicotine dans les produits de vapotage (RCNPV) qui est actuellement en vigueur. Le RCNPV limite la concentration en nicotine à un maximum de 20 mg/mL dans les e-liquides (Nicotine concentration in vaping products regulations: SOR/2021-123, 2021)

Le gouvernement du Canada fournit des lignes directrices supplémentaires pour promouvoir la fabrication de produits de vapotage non thérapeutiques en toute sécurité (Health Canada, 2018a). Il est recommandé aux fabricants de mettre en œuvre et d'utiliser des plans de contrôle de la qualité pour leurs opérations de production. La nicotine utilisée dans la production des e-liquides doit être de qualité pharmaceutique et la teneur en nicotine d'un produit de vapotage doit être indiquée avec précision sur l'étiquette du produit. Les arômes doivent être de qualité alimentaire. En relation aux ingrédients restants, ils doivent provenir de sources fiables avec des niveaux connus de qualité et de pureté. Il est interdit d'utiliser comme aromatisants dans les e-liquides des produits chimiques qui possèdent des risques d'inhalation connus, comme le diacétyle et le 2,3-pentanedione. Afin d'éviter la contamination microbienne, il est également suggéré de maintenir des conditions sanitaires appropriées pendant la préparation des e-liquides de vapotage.

CHAPITRE 3 ARTICLE 1 – OCCURRENCE OF METALS IN E-CIGARETTE LIQUIDS: INFLUENCE OF COILS ON METAL LEACHING AND EXPOSURE ASSESSMENT

3.1 Journal

Heliyon.

Submission date: December 13, 2022.

3.2 Title

Occurrence of metals in e-cigarette liquids: Influence of coils on metal leaching and exposure assessment.

3.3 Autorship

Claudia Alcantara [1], Laura Chaparro [2] & Gerald J. Zagury [1*]

[1] Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Polytechnique Montréal (QC),

Canada, H3C 3A7

*Corresponding author: gerald.zagury@polymtl.ca

[2] Les Laboratoires Vaporus Inc.

9704 Trans Canada route, Saint-Laurent (QC)

Canada, H4S 1V9

3.4 Abstract

Electronic cigarettes are generally recognised as a safer alternative than conventional cigarettes. Nevertheless, previous research suggests metal(loid) leaching due to coil contact, potentially transferring to the e-liquid and its aerosolized form. In this study, Cr, Cd, Ni, and Pb levels were measured by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) on 17 samples of e-liquids with different chemical properties (e.g., pH, nicotine content, flavouring, free-base, and nicotine salts). Twelve e-liquids were then put in contact with 36-gauge Kanthal A-1, Nichrome 80, Stainless steel 317L and disposable coils such as Juul, and Aspire BVC for three days at 200-250 °C for one hour each day. Metal levels expressed as mean (standard deviation) metal

concentration, were below detection (Cd) to very low in bottle samples (Ni ≤ 76(18); Pb ≤ 16(1.5); and Cr ≤ 386(15.6) µg/kg). In the coil extracts, varying concentrations of the same metal(loid) were found, indicating that metal leaching capacity may differ per sample. All samples contained Ni and Cr, followed by Pb to a much lesser extent. Cd levels were mostly below detection limits. Coil + e-liquid combinations with the highest Ni, Cr, and Pb concentrations were: Aspire BVC + Melon 0 mg/mL: Ni = 1.22E+04(281); Aspire BVC + Hit Nicotine 40 mg/mL: Cr = 864(116); and Nichrome 80 + Melon 0 mg/mL: Pb = 56(5) µg/kg. Overall, results suggest that nicotine salts at 40 mg/mL enhance Cr and Ni transfer. Stainless steel 317L released very low metal concentrations. A conservative screening level risk characterization showed that 10.5% and 3.5% of the coil extracts may exceed Ni and Cr (III) safe concentrations, respectively. In the aerosol phase, 8.8% of samples might be above Ni equivalent daily dose for chronic exposure and 1.8% for intermediate exposure. Further studies on coil metal leaching could aid in establishing coil manufacturing regulations.

Keywords: E-liquids, Trace metals, Coils, Metal exposure assessment, Risk characterization.

3.5 Introduction

The World Health Organization (WHO) recognizes tobacco consumption as an important public health threat responsible for over 8 million deaths per year globally. Moreover, 1.2 million deaths are related to non-smokers because of second-hand exposure (World Health Organization, 2021). Furthermore, WHO recognizes that cigarette smoking is still the most common form of tobacco consumption. Due to the low success rates of approved medicines and aids for smoking cessation (Moore et al., 2009; Rigotti et al., 2010), electronic cigarettes (ECs) have arisen as new and more effective tobacco harm reduction products (Grabovac et al., 2021). Currently, ECs are viewed as a safer alternative to smoking since they do not burn tobacco, thus minimizing the exposure to harmful chemicals generated during tobacco combustion (Chun et al., 2017; Health Canada, 2012).

ECs are battery-powered devices that heat e-liquids through a metallic coil, generating an aerosol commonly named vapor (Logue et al., 2017). This aerosol is inhaled by the EC user (sometimes referred to as a vaper) (Fuoco et al., 2014; Williams et al., 2013). E-liquids usually comprise propylene glycol (PG), vegetable glycerin (VG), flavoring additives, and may or may not contain nicotine. Previous studies have reported the presence of trace metals such as Cd, Cr, Pb, and Ni in

e-liquids, EC cartomizers, and their vapor emissions (Colijn & Mikheev, 2018; Hess et al., 2017; Liu et al., 2020; Na et al., 2019). Research also showed that metal(loid) concentrations in EC aerosol can be variable (Badea et al., 2018; Beauval et al., 2017; Goniewicz et al., 2014; Palazzolo et al., 2017; Saffari et al., 2014). Generally, Cd concentrations in aerosol are low in comparison to conventional smoking cigarette (Zhao et al., 2020).

Literature reviews report that metal transfer can originate from different sources in ECs, such as poor-quality device components that might leach metals towards the e-liquid (Loewenstein & Middlekauff, 2017; Williams et al., 2013). Nevertheless, the heating coil is considered the most likely source of trace metals in ECs (Arnold, 2018; Olmedo et al., 2018; Williams et al., 2019). Coils traditionally preferred by vapers were made of Nichrome (an alloy of nickel and chromium) and Kanthal (an alloy of iron, chromium, and aluminum) (Farsalinos et al., 2015; Kanthal AB, 2003). Lately, stainless steel **(**an alloy of iron, chromium, nickel, and carbon) (Azo, 2012) and nickel coils are also being used as heating coils (Zervas et al., 2020).

To assess the coil role in metal transfer towards e-liquids and EC aerosols, Olmedo et al. (2018) measured 15 metal(loid) concentrations (µg/kg) in refilling e-liquids, tanks, and aerosols from 56 EC devices and their e-liquid dispenser bottles collected from vapers in Maryland, USA. Selected metal concentrations in the tanks were (median (interquartile range) concentration): Cr = 55.4 (17.4-217), Cd = 0.126 (<0.1, 0.267), Ni = 233 (69.5-675) and Pb = 40.2 (13.6-189) whereas in the aerosols, metal concentrations were Cr = 8.38 (<0.5-43.9), Cd < 0.1 (<0.1, 0.134), Ni = 68.4 (6.19-289), and Pb = 14.8 (3.10-37.1), respectively. Results showed an increase in the metal concentrations in the tanks and aerosols compared to the e-liquids from the dispenser bottles but the influence of e-liquid characteristics (such as pH, nicotine content, and flavoring) and of coil composition on metal leaching were not assessed.

Across various studies that assessed metal transfer from the heating coil, there is high variability in the reported metal concentrations. Factors that influence these differences could be different sample collection methods, a lack of standardization of analytical techniques, different vaping regimes, or an absence of standardized units to express results. This hinders the comparison between studies and the estimation of a potential delivered dose of metals to EC users. To facilitate the comparison, Zhao et al. (2020) performed a systematic review of studies published between 2008 and 2018 concerning metal(loid) levels in EC liquids and standardized the result

units in µg/kg. Despite a variation in mean metal concentrations of one to three orders of magnitude among the studies, including for similar types of e-liquid samples, the metal(loid) levels in e-liquids without contact with the heating coil (dispenser bottle samples) were markedly lower than samples that had been in contact with the coil.

Besides coil composition, other factors that might influence the metal migration from the coil towards the e-liquid include applied battery voltage, frequency of coil replacement (Aherrera et al., 2017; Olmedo et al., 2018), rate of heat transfer within the device (Chen et al., 2018; Mulder et al., 2020), device type (Zhao et al., 2019), and airflow (Zervas et al., 2020; Zhao et al., 2019).

In a recent preliminary and small-scale study (Aherrera et al. 2017) involving 50 sole e-cigarette users and 14 dual users (e-cigarette users and cigarette smokers), researchers have utilized biomarkers to assess the relationship between metal exposure in EC emissions and metal internal dose. They reported a positive association of Ni and Cr aerosol concentrations with corresponding Ni and Cr levels in biospecimen samples (urine, saliva, and exhaled breath condensate) triggering concerns regarding the potential health effects of chronic metal exposure.

Hence, the present research aims to: (1) assess the metal content (Cd, Cr, Ni, and Pb) of e-liquids available on the Canadian vaping market, (2) assess the metal leaching (Cd, Cr, Ni, and Pb) from the most employed heating coils in ECs, (3) determine the influence of e-liquids' parameters such as pH, nicotine content, and flavoring as well as the metal composition of the coils on the metal leaching process, (4) estimate the metal exposure from e-liquids and extrapolate it to an inhalation scenario, (5) perform a screening level risk characterization, and (6) suggest a preferred heating element based on metal exposure estimation.

3.6 Materials and methods

All glassware, containers, and tools used were washed with a phosphate-free detergent, soaked overnight in 10% (v/v) HNO_3, and rinsed twice with deionized water (18.2 MΩ cm). Metal concentrations were measured by ICP-MS (Perkin Elmer NexION 300x). When assessing metal content in e-liquids (including coil extracts), detection limits (DL) were: Cd: 0.005, Cr: 0.016, Ni: 0.004, and Pb: 0.0002 µg/kg.

3.6.1 Cd, Cr, Ni, and Pb concentrations in different e-liquid brands available on the Canadian vaping market

Seventeen e-liquids were purchased from vaping products retailers in bottles and pods with volumes ranging from 0.7 to 60 mL. E-liquids with various characteristics were selected among popular e-liquid brands sold in Canada at the time of purchase (personal communication with manufacturers). Table S.1 (Supplementary material) presents the 17 e-liquids under an appellative that associates the flavor or a particular characteristic of each e-liquid according to the product's description. Furthermore, Figures 1 and 2 show pH values of e-liquid samples measured at a 5:1 (w:w) dilution of e-liquids with deionized water as per St. Charles et al. (2016). Metal content in e-liquid samples was determined in duplicates following an acid digestion with HNO_3 and H_2O_2 without heating. Heating was omitted because it exacerbated a strongly exothermic reaction between the reagents and e-liquids. Acid digestion was used to reduce matrix effects in ICP-MS caused by the organic phase in samples (Agatemor & Beauchemin, 2011), which can lead to inaccuracy in the metal quantification (Beauval et al., 2016; Ohashi, 2018; Joza et al., 2020).

Due to the high viscosity of e-liquids, an analytical scale (Cole-Parmer, model TA-64, 0.0001 g) was used to transfer about 100 mg of sample pipetted with a polyethylene pipette (3.2 mL) into a 10 mL HDPE tube. Then, 2 mL of HNO_3 68% (w/w) trace metal grade and 200 µL of H_2O_2 at 30% (w/w) supra pure grade were added to the HDPE tube (loosely covered with its cap to allow gas release) placed on a tube holder then left inside the fume hood for two days. Samples were then diluted 34 times and made up to volume with deionized water in a different 10 mL HDPE tube. The final samples were in HNO_3 2% (w/w) to avoid nebulization issues during ICP-MS measurements. Finally, 12 e-liquids were selected for the leaching experiments (PY 3 mg/mL, NB 3 and 18 mg/mL, LT 3 and 18 mg/mL, ML 0 mg/mL, BR 10 and 40 mg/mL, NS 3 and 40 mg/mL, HN 40 mg/mL, and TB 5%). This group of samples was chosen for its wide pH range value, flavoring presence, nicotine content, nicotine molecule form (free-base and nicotine salt), and PG:VG ratio. Furthermore, e-liquids from different providers in Canada were included.

3.6.2 Cd, Cr, Ni and Pb levels in coils

Five coils were selected to assess Cd, Cr, Ni, and Pb concentrations among built and disposable coils. The selected building coils were made of Kanthal A-1 (K-A-1), Nichrome 80 (N-80), and Stainless steel 317L (SS-317L), all 36-gauge coils with a resistance of 4.2 Ω and length of 36.7, 48.8 and 65.7 mm respectively. These coils were chosen because in a preliminary test, they leached higher amounts of metal per gram of coil surface area (µg/g. mm^2) when compared with 20, 22, and 28 gauge (data not shown). The K-A-1, N-80, and SS-317L coils were built using a 2 mm rod; the resistance, coil length and the number of wraps in these coils were calculated using the web page of *Steam Engine* (Simonsen, 2014). Since Aspire BVC and Juul represented the best-selling disposable coil brands at the time of purchase, they were also included in the study.

Duplicate measurements were performed on coil samples to determine metal content. Each coil was weighted and then heated on a hot plate using HNO_3 (70% w/w), HF (50% w/w), and $HClO_4$ (70% w/w) until complete digestion following standard method 3030 (Clesceri et al., 1999). Digestates were transferred to 50 mL volumetric flasks and made up to volume with deionized water. Solutions were filtered with 0.45 µm filters (Whatman) and stored in 50 mL polypropylene centrifuge tubes with high-density polyethylene (HDPE) screw caps at 4 °C. ICP-MS DLs were: Cd: 0.012, Cr: 0.010, Ni: 0.013, and Pb: 0.002 µg/L.

3.6.3 Vaping patterns

Real EC users did not participate in this study. Thus, to mimic realistic usage patterns, some of the inhalation topography values were calculated based on scientific data, whereas other parameters were taken from the literature. Likewise, puff duration was 4 s (CORESTA, 2015; Flora et al., 2016; Havel et al., 2017), puff interval was 30.0 ± 0.5 s (Flora et al., 2016), vaporization temperature range was 200 °C - 250 °C (Cui et al., 2017), and the number of puffs per day (n_{puffs}) for a heavy EC user was 500 as a worst-case scenario (Bertrand & Bricard, 2015; Poulsen et al., 2017). The total volume of e-liquid consumed per day was 3.3 mL for 500 puffs (150 puffs consume 1 mL of e-liquid), and the actual vaping time per day was approximately 30 min (considering a duration of 4 s per puff) (Poulsen et al., 2017). To accelerate the metal transfer process, samples were heated on a hot plate for 1 h each day for 3 days, instead of 30 min/day for 6 days, leading to the use of a total volume of e-liquid of 20 mL in metal transfer assays.

3.6.4 Assessment of metal transfer to e-liquids

Due to the complexity of more advanced e-cigarette devices and to avoid vaping machine adaption, metal leaching from built and disposable coils was assessed in heated glass beakers containing a coil sample and 20 mL of e-liquid. The mass equivalent to 20 mL of e-liquid was transferred using an automatic pipette and weighed with an analytical scale. Each coil type was extracted with the 12 selected e-liquid samples (in duplicates). Procedure blanks (glass beaker with e-liquid sample heated without coil) were also ran in duplicates, yielding a total of 142 samples. Beakers covered with a watch glass were then placed on a hot plate. The temperature range (200 °C - 250 °C) was controlled with a Type-K/J thermocouple (EXTECH Instruments, Model: TM100) every 15 min. To maintain the coil under wet-through-wick conditions (Chen et al., 2018) and to maintain a volume of 20 mL, small volumes of e-liquids were added every 30 min if needed. After 1 h, the hotplate was turned off, and the samples were left at room temperature to cool down for 10 min. They were then placed in a desiccator until the next day when they were weighed again and refilled with e-liquid when required. On the fourth day, metal concentrations in the remaining e-liquids were determined after acid digestion (see Section 3.6.1).

3.6.5 Metal exposure estimation and comparison with threshold values

Two quantitative risk assessment methodologies were chosen to calculate equivalent thresholds based on a margin of exposure (MOE) approach using existing inhalation limit values (ILVs). The MOE approach has been recently used in exposure assessment to EC aerosols (Lachenmeier et al., 2018; Rodrigo et al., 2021). The first methodology, proposed by Poulsen et al. (2017), determines the allowed safe concentration of a substance present in e-liquids. The proposed threshold values calculated via this method were compared with the metal levels in e-liquids before and after coil contact. Flora et al. (2016) propose the second methodology to estimate the daily amount of metal acceptable in the vapor phase. To perform the exposure analysis in the EC vapor phase, metal values were extrapolated from metal concentrations measured in the liquid phase (Olmedo et al., 2018).

The following assumptions were considered:

1) The main exposure pathway is inhalation, thus ILVs, (mg/m^3) such as reference minimal risk levels (MRL), permissible exposure limits (PEL), recommended exposure limits

(REL), and threshold limit values (TLV) were used (Table S.5) (Occupational Safety and Health Administration (OSHA), 2019). Among the ILVs, ILVs with non-cancer health effects for an exposure duration of a lifetime (e.g., MRLs) and an 8 h workday over the term of a working lifetime (e.g., PEL.) were considered.

2) Metals in the e-liquid are absorbed at 80 % (WHO, 1991, 2000; ATSDR, 2012) (absorption coefficient of 0.8) in order to take a worst-case scenario approach during the exposure analysis.
3) During the vaporization process, metals identified in e-liquids are vaporized without undergoing a chemical reaction or any chemical change. Therefore, for Cr, only Cr (III) presence was assumed.
4) In the vapor phase, a fraction of metal transfer towards the aerosols is assumed, because a previous study has shown that metal concentrations are much lower in aerosols than in e-liquid tanks (Olmedo et al., 2018).

3.6.5.1 Method 1: Calculation of the safe concentration for a metal in e-liquids

Eq. (1) (Poulsen et al., 2017) was used to calculate an allowed safe concentration (SC) of a metal in the e-liquid.

$$SC\ (\frac{mg}{mL}) = (V_{air\ daily}) \times (\ ILV_{substance})/(Abs_{substance}) \times (V_{liquid\ per\ puff}) \times (n_{puffs}) \qquad (1)$$

SC represents the safe concentration of a specific metal in the e-liquid (mg/mL) that can be taken daily without causing harmful health effects for chronic exposure. $V_{air\ daily}$ is the volume of air inhaled per 24h (20 m^3) (Farsalinos et al., 2015; Rodrigo et al., 2021) or 6.67 m^3 per 8 h (for occupational limit values). ILVs (mg/m^3) of the metals were taken from the literature (Table S.5). $Abs_{substance}$ is the absorption coefficient of the substance (a value of 0.8 was used). $V_{liquid\ per\ puff}$ is the consumed volume of e-liquid (mL) per puff, established at 0.0067 mL/puff (Poulsen et al., 2017), and n_{puffs} is 500 puffs for heavy EC users. SCs for each metal were calculated and then compared with the metal concentrations found in the dispenser bottle e-liquids and in the liquids after contact with the coils. Eq. (2) was used to convert metal concentrations in e-liquids from µg/kg to mg/mL:

$$C_{M\,e-liquid}\left(\frac{mg}{mL}\right) = C_M\left(\frac{\mu g}{kg}\right) x\ \rho_{e-liquid}\left(\frac{kg}{L}\right) x\ 10^{-3}\left(\frac{L}{mL}\right)\ x\ 10^{-3}(\frac{mg}{\mu g}) \qquad (2)$$

Where C_M is the e-liquid metal concentration in µg/kg, and $\rho_{e\text{-liquid}}$ is the density of e-liquid.

3.6.5.2 Method 2: Calculation of the equivalent daily dose

This method (Flora et al., 2016) provides an estimated daily dose (EDD) of a specific substance using an ILV (mg/m^3) and a volume of daily inhaled air ($V_{air\ daily}$) using Eq. (3).

$$EDD_{ILV}\left(\frac{mg}{day}\right) = ILV_{substance}\left(\frac{mg}{m^3}\right) x\ V_{air\ daily}\left(\frac{m^3}{day}\right) \qquad (3)$$

In the present study metal concentrations in EC aerosols were not measured. Previously reported data (Olmedo et al.,2018) shows that the metal transfer to the aerosol varies for each metal analyte and indicates that the possibility of 100% transfer of metal from the e-liquid to the aerosol is highly unlikely. Based on Olmedo et al. (2018) data, we assumed for each metal except for Cd (below detection in e-liquids), a fraction of metal transferred to the aerosol to determine the theoretical daily dose of metal emitted into the EC aerosol ($TDD_{aerosol}$). The $TDD_{aerosol}$ values were then compared with the calculated EDD_{ILVs} thresholds. Eq. (4) was used to calculate the $TDD_{aerosol}$ values.

$$TDD_{aerosol}\left(\frac{mg}{day}\right) = \%X_{Mi}\left(\frac{\mu g}{kg}\right) x\ V_{eliquid}\left(\frac{L}{day}\right) x\ \rho_{e-liquid}\left(\frac{kg}{L}\right) x\ 10^{-3}\left(\frac{mg}{\mu g}\right) \qquad (4)$$

Where $\%X_M$ (Cr = 15%, Ni = 30% and Pb = 40%) is the % of metal concentration (µg/kg) that passes towards the aerosol from the liquid phase and $V_{eliquid}$ is the volume of consumed e-liquid per day (3.3 mL) for 500 puffs.

3.6.6 Quality assurance and quality control

Unless otherwise mentioned, for each batch experiment lot, reagent blank samples (n = 2) were included for quality control. The median values of blanks were subtracted from the measured concentrations in the samples. Procedure blanks were also added for each e-liquid in the coil metal leaching assays. Metal concentrations in e-liquids are expressed as µg/kg ± SD. Metal concentrations below DLs were substituted by DL/√2 for calculation purposes (Aherrera et al., 2017; Olmedo et al., 2018). To our knowledge, certified reference material for e-liquids are not available. Therefore, to evaluate the method's reliability and assess metal recovery, preliminary tests were conducted, adding 100 µL of a spiked solution consisting of 0.06 µg/L Cd, 0.25 µg/L

Cr, 0.1 µg/L Ni, and 0.01 Pb µg/L in non-flavored e-liquid samples at 3 mg/mL of nicotine and a PG:VG ratio of 50:50. Mean recoveries (average ± RSD %) were: Cd: 82% ± 6%; Cr: 98% ± 5%; Ni: 98% ± 16%; and Pb: 96% ± 8%.

3.6.7 Statistical analysis

The non-parametric Wilcoxon signed rank test was performed to assess whether there was a significant statistical difference ($p \leq 0.05$) between metal concentrations in paired samples of e-liquids in contact with different coils. Statistical treatment of the data was performed using the software PAST 4.11 (Hammer et al., 2001).

3.7 Results and discussion

3.7.1 Metal concentrations in dispenser bottles

Metal levels expressed as mean (standard deviation) metal concentration (µg/kg), were mainly below detection (for Cd), very low for Pb (≤ 16(1.5)) and Ni (≤ 76(18)) and low for Cr (≤ 386(15.6)) in all bottle samples (Figures 3.1 and 3.2 and Table S.2). The variability in metal concentrations among the different bottle samples might be related to the different e-liquid formulations and different manufacturers as pointed out in other studies (Bertholon et al., 2013; Poulsen & Fiala, 2020). The overall low metal concentrations in bottle samples bought on the Canadian market are in agreement with the findings of Zhao et al. 2020.

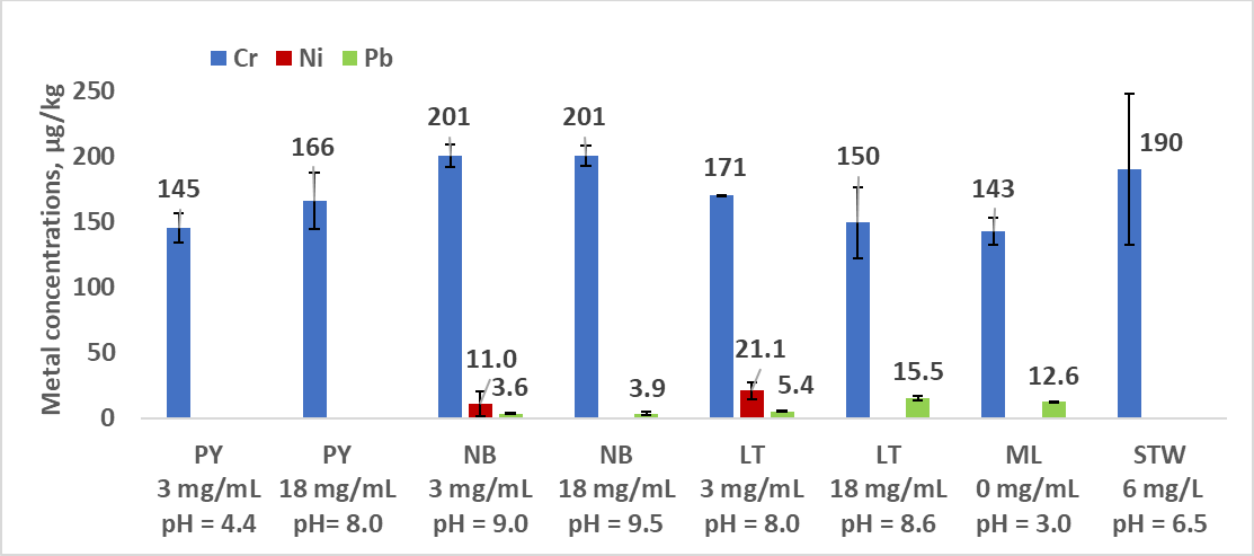

Figure 3.1. Metal concentration (µg/kg) in dispenser bottles of free-base nicotine e-liquid samples. (See Table S.1 for detailed e-liquid description)

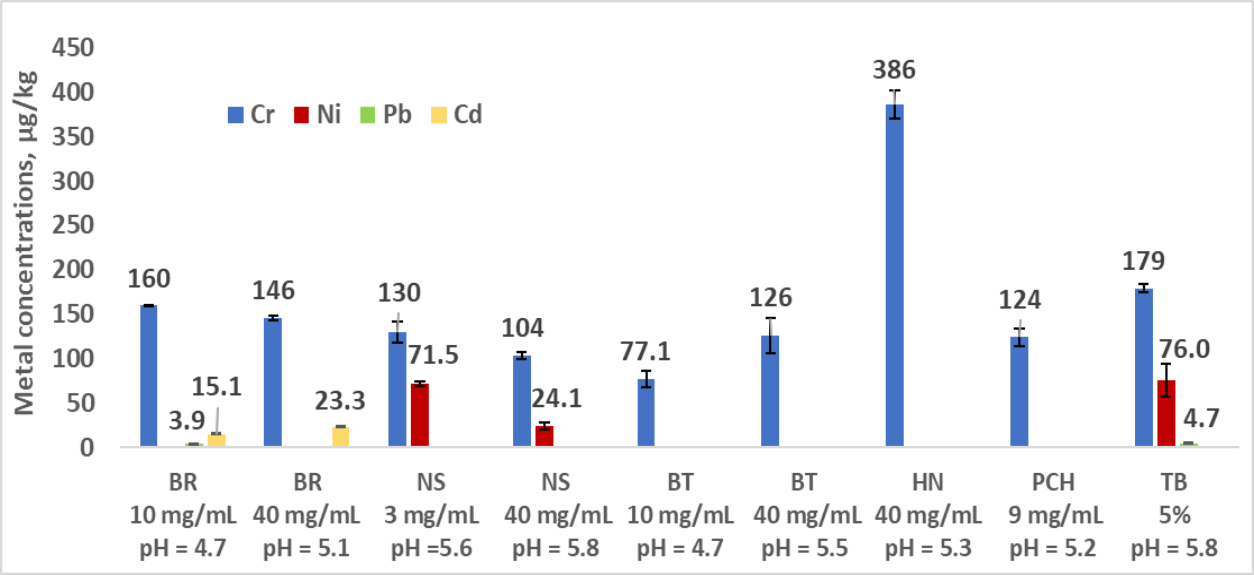

Figure 3.2. Metal concentration (µg/kg) in dispenser bottles of nicotine salt e-liquid samples. (See Table S.1 for detailed e-liquid description)

3.7.2 Cd, Cr, Ni and Pb levels in coils

Not surprisingly, Cr and Ni were the main metals found in all coils whereas Pb and Cd levels (mean (standard deviation)) in all coil samples were very low ≤ 5.2 (8.2E-02) and ≤ 32.4 (1.9) mg/kg,

respectively (Table 3.1). High Cr and Ni concentrations in coil samples highly agree with previously published data. Aspire BVC had the highest Ni content, 9.6E+05 (7.7E+03) mg/kg but its Cr content was the lowest (4.3E+04 (5.1E+02) mg/kg), around 5 times lower than the highest Cr level measured in Kanthal A-1, 36-gauge, (2.1E+05 (2.8E+03) mg/kg).

Table 3.1. Cd, Cr, Ni and Pb concentrations (mg/kg) in study coils.

Coil samples	**Cr (mg/kg)**	**Ni (mg/kg)**	**Cd (mg/kg)**	**Pb (mg/kg)**
Juul	1.4E+05 ± 1.6E+03	6.1E+05 ± 7.8E+03	1.0 ± 2.5E-01	< DL[a]
Aspire BVC	4.3E+04 ± 5.1E+02	9.6E+05 ± 7.7E+03	0.6 ± 6.1E-02	4.1 ± 2.3E-01
Kanthal A-1 (20 gauge)	2.2E+05 ± 1.0E+03	1.4E+03 ± 1.9E+01	1.9 ± 4.1E-02	5.2 ± 8.2E-02
Kanthal A-1 (28 gauge)	1.9E+05 ± 7.2E+02	1.8E+03 ± 3.4E+01	26.7 ± 0.99	< DL[b]
Kanthal A-1 (36 gauge)	2.1E+05 ± 2.8E+03	2.0E+03 ± 5.3E+01	29.4 ± 1.9	0.6 ± 1.8
Nichrome 80 (20 gauge)	2.0E+05 ± 3.0E+02	7.9E+05 ± 4.1E+03	0.2 ± 1.8E-02	0.8 ± 1.6E-02
Nichrome 80 (28 gauge)	2.1E+05 ± 2.5E+03	7.8E+05 ± 1.1E+04	0.4 ± 3.6E-02	0.9 ± 6.8E-02
Nichrome 80 (36 gauge)	2.1E+05 ± 3.7E+03	8.1E+05 ± 7.4E+03	2.0 ± 1.9E-01	< DL[c]
Stainless steel 317 (22 gauge)	1.9E+05 ± 2.1E+03	1.4E+05 ± 9.6E+02	11.3 ± 2.6	0.3 ± 7.7E-03
Stainless steel 317 (28 gauge)	1.7E+05 ± 3.6E+03	1.4E+05 ± 8.3E+02	16.8 ± 4.2E-01	0.5 ± 5.3E-02
Stainless steel 317 (36 gauge)	1.7E+05 ± 2.2E+03	1.4E+05 ± 6.7E+02	32.4 ± 1.9	1.9 ± 7.8E-01

[a]DL was 2.31E-02 mg/kg.

[b]DL was 2.31E-03 mg/kg.

[c]DL was 2.18E-02 mg/kg.

3.7.3 Metal transfer to e-liquid samples

Metal concentrations tended to increase in the 12 e-liquid samples after contact with coils (Table S.3). The e-liquids with the highest metal levels were HN 40 mg/mL with a mean (SD) Cr

concentration of 547(223) µg/kg, which was around 1.4-fold the Cr concentration of this refill liquid before contact with coils. Meanwhile, ML 0 mg/mL (Aspire), NB 3 mg/mL (Kanthal A-1) and ML 0 mg/mL (Nichrome 80) had the highest Ni, Cd, and Pb concentrations, which were around 1.8E+05-fold, 360-fold, and 4-fold respectively the initial Ni, Cd, and Pb levels of these liquids in their dispenser bottles prior to contact with the coil samples.

Results show that different coils leached different amounts of the same metal when they were in contact with the same e-liquid. To assess the specific contribution of each coil to metal enrichment, metal concentrations measured in procedure blanks in leaching experiments were subtracted from the sample measurements (see Table S.4 and Figures S1 to S5). Overall, Cr and Ni were present in the majority of samples whereas Cd concentrations were < DL in most samples. The highest levels of Cr and Ni were released by Aspire BVC coil in most cases, 480 (116) and 1.23E+04 (2.8E+02) µg/kg respectively, compared to Nichrome 80 (163 (30.1) and 589 (64.3) µg/kg), Juul (287 (87.0) and 331 (34.7) µg/kg) and Kanthal A-1 coils (138 (9.7) and 478 (6.3) µg/kg).

In addition, it was noted that Stainless steel 317L coil leached metals in a much lower extent (the highest value being 36.1 (25.3) µg/kg for Ni) showing that metal transfer to the same e-liquid varies depending on the coil used. The Wilcoxon signed rank test showed that Ni concentrations in e-liquids were significantly different ($p < 0.05$) between Aspire BVC ($p = 0.001$, $n = 11$), Juul ($p = 0.001$, $n = 11$), and Nichrome 80 ($p = 0.007$, $n = 11$) each compared to Stainless steel 317L, except for Kanthal A-1 ($p = 0.1$, $n = 11$). Cr concentrations in e-liquids between each coil and Stainless steel 317 L were not significantly different ($p > 0.05$, $n = 11$).

The combinations of coil + e-liquid sample that yielded the highest mean (SD) Cr and Ni concentration were: HN 40 mg/mL + Aspire BVC (Cr = 864 (116) µg/kg) and ML 0 mg/mL + Aspire BVC (Ni = 1.22E+04 (2.8E+02) µg/kg). Results suggest that e-liquids that enhance Cr and Ni transfer from the coils are nicotine salts (protonated nicotine) at very high concentrations (40 mg/mL) and ML 0 mg/mL, a very acidic (pH 3) flavored e-liquid without nicotine, but only when in contact with Aspire BVC coil. The PG:VG ratio in e-liquids did not appear to significantly influence the metal transfer in the present study.

Nicotine salts are created by mixing up the nicotine as a free-base (Nic) with an organic acid where Nic turns into a monoprotonated form ($NicH^+$). $NicH^+$ and the deprotonated organic acid generate the nicotine salt (Harvanko et al., 2020). According to Peters (2002), the passivation layer that

protects metallic surfaces is stable at a slightly alkaline to neutral pH. However, an acidic environment will affect this protective layer. The nicotine salts used in this study (Fig.2) have an acid pH (≤ 5.8), that might trigger the dissolution of the protective layer therefore leaving a vulnerable metal surface that could interact with the salt anion. When the salt anion is adsorbed to the metal surface, a metal salt could be formed. In addition, the presence of H_2O molecules, as a product of the thermal degradation of e-liquids (Goniewicz et al., 2014; Vautrot, 2016) and the formed metal salts could favor the hydration of the metal ions, thus gaining high stability as a hydrated compound and increasing the metal present in the solution.

Currently, different companies produce nicotine salts because they upgrade the sensory experience of vaping, making it more appealing (Leventhal et al., 2021). Some of the organic acids used in nicotine salt formulations are lactic, benzoic, glycolic, levulinic, salicylic, malic, and tartaric acids (Harvanko et al., 2020). To preliminary assess whether the different organic acids used in these formulations could influence the metal transfer, we included two unflavored nicotine salts, NS 40 mg/mL and HN 40 mg/mL, formulated with glycolic acid and benzoic acid, respectively but with similar pH values. Different levels of Cr and Ni were leached when these nicotine salts were in contact with the Aspire BVC coil (Figure S.3-B). E-liquid HN 40 mg/mL leached the highest Cr and Ni concentrations of 480(116) µg/kg and 3.39E+03(4.1E+01) µg/kg respectively compared to 24.1(3.2) µg/kg and 1.59E+03(7.0E+00) measured in NS 40 mg/mL. These results suggest that the type of organic acid used in the nicotine salt formulation may intervene in the metal transfer from the coil. This being said, the Canadian government has recently published the Nicotine Concentration in Vaping Products Regulations to limit nicotine concentration to 20 mg/mL in e-liquids (Nicotine concentration in vaping products regulations: SOR/2021-123, 2021). This restriction, should help decrease metal leaching from coils by removing nicotine salts at high concentrations from the market.

ML 0 mg/mL was used to assess the flavoring role in the metal transfer. ML 0 mg/mL has no nicotine, and it is a blended flavor. Flavor blending involves the combination of two or more flavoring ingredients to elaborate a more complex flavor profile. Despite it is very low pH, most of the coils interacting with ML 0 mg/mL released low metal levels (under 50 µg/kg, Figs S1-A to S5-A) except for Aspire BVC coil with a Ni level of 1.23E+04(2.8E+02) µg/kg. This different behavior might be caused by the composition or by the absence of a passivation layer in Aspire BVC coil.

The chemical composition of SS-317L is mainly 61% Fe, 19% Cr, and 13 % Ni (Azo, 2012), and its stainless properties are due to chromium that forms a protective layer (or passivation layer) of Cr_2O_3 to avoid further degradation. The detailed metal composition of Aspire BVC coils is not provided by the manufacturer (Aspire Vape company) but our results showed the highest Ni content and the lowest Cr content of all coils tested (Table 3.1). Unfortunately, the total metal content does not allow to determine the composition of a passivation layer in Aspire BVC coils. For example, Kanthal A-1 contains Cr, but its passivation layer is made of Al_2O_3 (Mulder et al., 2020). The composition of the protective layer might influence the released Cr and Ni concentration towards the e-liquid.

3.7.4 Metal exposure estimation and comparison with threshold values

3.7.4.1 Safe concentrations of Cd, Cr, Ni and Pb in e-liquids from dispenser bottles and coil extracts

Metal concentrations in e-liquids from the refill bottles expressed in mg/mL (Table S.6) were all below the safe concentration values (SC, mg/mL) (Table 3.2). Although, Cr concentrations were relatively higher (compared to other metals) in e-liquid refill bottles (Figures 3.1 and 3.2), they did not exceed the safe concentration thresholds for Cr (III). According to manufacturer information, the quality of raw materials used in the samples formulation match the American E-liquid Manufacturing Standards Association (AEMSA, 2017), which demands that the base ingredients of e-liquids such as liquid diluent (PG and VG) must be USP-grade certified and nicotine purity must be at least equal to 99% or greater, whereas flavorings must mainly adhere to FDA designations food-grade and generally recognized as safe (GRAS) (Barrington-Trimis et al., 2014). Previous research on metals in dispenser e-liquids also concluded on the absence of heavy metals that warrant a health concern (Burstyn, 2014; Famele et al., 2015; Laugesen, 2008).

Table 3.2. Safe concentrations (SC)[a] of metals in e-liquids (mg/mL).

Metal	Cr (III)	Ni	Pb	Cd
MRL[b]	7.5E-04	1.5E-03 (Int)[c] 6.7E-04 (Chr)[d]		7.5E-05 (Chr)
PEL[e]	1.2	2.5	0.1	
REL[f]	1.2	0.04	0.1	
TLV[g]	7.5E-03	3.7	0.1	5.0E-03

[a] Values were calculated using ILVs (Table S.5) and Eq. (1)
[b] MRLs: Minimal risk levels according to Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)
[c] Int = Intermediate-duration inhalation exposure (15-364 days)
[d] Chr = Chronic-duration inhalation exposure (≥ 1 year).
[e] PEL: Permissible exposure limits according to Occupational Safety and Health Administration (OSHA)
[f] REL: Recommended exposure limits according to National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH).
[g] Threshold limit values according to the American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)

To consider the combined metal contribution from the e-liquids and the leached metals from the coil, $C_{M\ e\text{-}liquid}$ values (mg/mL) (Table S.7) were calculated using the data from the coil leaching tests (Table S.3). Results show that 10.5% (6 out of 57 samples) of the coil + e-liquid combinations exceeded the SC limits for Ni, and that only 3.5% (2 out 57 samples) of samples matched or exceeded the SC for Cr (III). The Cr levels released by Juul (7.5E-04(9.8E-05) mg/mL) and Aspire BVC coils (9.7E-4 (1.3E-04) mg/mL) when extracted with HN 40 mg/mL equalled or were 1.3 times higher respectively, than the SC for Cr (III) of 7.5E-04 mg/mL. Regarding Ni, 8.8% of samples (5 out of 57 samples), all obtained when in contact with Aspire BVC coil exceeded the SC of Ni for an intermediate exposure (1.5E-03 mg/mL) and chronic exposure (6.7E-04 mg/mL). The SCs were mainly surpassed in nicotine salts at high concentrations (NS 40 mg/mL, HN 40 mg/mL, and BR 40 mg/mL) and in pH 3 e-liquid ML 0 mg/mL. When $C_{M\ e\text{-}liquid}$ were only compared to SC of Ni for chronic exposure, the combination of Nichrome 80 coil + nicotine salt BR 40 mg/mL could be added to the 5 previously mentioned Aspire BVC coil + e-liquid combinations.

In contrast, Juul, Kanthal A-1 and SS-317L coils, when extracted with the 12 e-liquid studied, all showed Ni levels below the SCs for intermediate and chronic exposure. Moreover, no samples were above the SCs, calculated with all ILVs (MRL, PEL, REL, TLV) for Pb and Cd.

3.7.4.2 Metal exposure in EC vapor: metals equivalent daily dose

Assuming a fraction of each metal transferred to the aerosol from the e-liquids, the theoretical daily doses of metals ($TDD_{aerosol}$) emitted to the EC aerosols (Table S.8) were compared to the calculated EDD_{ILVs} (Table 3.3). Using this approach, a lower number of coil + e-liquid combinations (8.8 %

i.e., 5 out of 57 samples) exceeded the EDD_{ILVS} for Ni (chronic exposure), and none of all 57 coil + e-liquid combinations tested surpassed the EDD_{ILVS} for Cr (III) or for Pb.

The group of 5 samples again consisted of Aspire BVC coils with ML 0 mg/mL and some nicotine salts at high concentration, mainly. Among this group of samples, only one coil + e-liquid combination yielded a $TDD_{aerosol}$ above the EDD_{ILV} for an intermediate exposure to Ni. The Aspire BVC coil + Melon 0 mg/mL combination might generate Ni levels in the aerosol that outstrip around 3.5- and 8- times EDD_{ILV} thresholds for intermediate and chronic exposure, respectively. This being said, the EDD_{ILVS} calculated using occupational limit values were never exceeded.

Table 3.3. Equivalent daily dose (EDD_{ILV})[a] of Cr, Ni and Pb in mg/day.

EDD_{ILV} (mg/day)			
Metals	**Cr (III)**	**Ni**	**Pb**
MRL	2.0E-03	4.0E-03(Int)[b] 1.8E-03(Chr)[c]	
PEL	3.3	6.7	3.3E-01
REL	3.3	0.1	3.3E-01
TLV	2.0E-02	10	3.3E-01

[a]EDD_{ILV} values represent the limit dose of metal inhaled daily without generating a harmful health effect. EDD_{ILV} values were calculated using ILVs (Table S.5) and Eq. (3).

[b]Int = Intermediate-duration exposure (15-364 days).

[c]Chr = Chronic-duration inhalation exposure (≥ 1 year).

The existing inhalation thresholds used to perform a risk assessment for ECs do not properly reflect real EC usage scenarios. For instance, certain ILVs relate the exposure with every single breath (humans take about 22 000 puffs per day at rest) (Canadian lung association, 2016), while only a few EC users exert more than 600 puffs/day (Bertrand & Bricard, 2015). Nevertheless, SCs and EDD_{ILV} were calculated using 20 m^3 of air inhaled per 24 h. Secondly, the much higher occupational limits such as REL or PEL are set for a range of time exposure that may not reflect EC users' usage (8-hr period for five days with 16hr of recovery between shifts and two days of recovery on the weekend) (Allen et al., 2016). The fact that some $C_{M\ e\text{-}liquid}$ values and TDDs were above the proposed thresholds for Cr and Ni based on MRLs might have been a consequence of hypotheses used during the exposure assessment. For example, the SCs were established assuming

a highly conservative value of 80 % of metal absorption. The particle size and the solubility characteristics in lung fluids influence metal absorption; e.g., nickel carbonyl, a volatile lipid-soluble compound present in cigarette smoke, is absorbed by at least 50% in a single inhaled dose (WHO, 1991). Regarding ECs, the existence of nickel carbonyl has not been confirmed but is possible because of thermal degradation of the organic phase (PG/VG). Therefore, the threshold values determined in this study are estimates that could be helpful at a screening level. Further adjustments are required to carry out an accurate risk assessment following exposure to metals from e-cigarettes. ILVs with non-cancer health effects were considered; thus, Cr (VI) was not considered in the human health exposure assessments. We highly recommend measuring the valence state of Cr in e-liquids and aerosols in future research; therefore, a cancer risk can be estimated by applying the inhalation unit risk for Cr.

Finally, the following health outcomes should be considered for chronic exposure to Cr and Ni. Chronic exposure to Ni causes allergic asthma, rhinitis, chronic sinusitis, and bronchitis (ATSDR, 2005). Ni is classified as carcinogenic to humans (group 1) via the inhalation route with diffferent carcinogenic potential across Ni species (ATSDR, 2005; U.S.EPA, 2000b). In must be noted that conventional cigarette smoking is a significant source of Ni, and it has also been related to nickel allergy (Thyssen et al., 2007). The respiratory tract is a target organ for Cr (III and VI) (U.S.EPA, 2000a). Cr (VI) is known as genotoxic to humans (ATSDR, 2012; IARC, 1990; Nordberg et al., 2014; U.S.EPA, 2000a), but Cr (III) is classified as not carcinogenic.

3.8 Study limitations

This study does have limitations. First of all, ECs were excluded from experimental methodology due to vaping machine limitations to test more advanced devices (Havel et al., 2017). Thus, the coils were not directly heated through an electrical current, potentially influencing the metal transfer process. Furthermore, other sources of potential metal transfer to e-liquids were not considered in this assay, although EC atomizers are mostly made of metal. Williams et al. (2019) indicate that other parts of the EC atomizer (e.g., coil joints) may release metals or add new metal analytes to the vapor phase. This would depend on EC generation, the melting point of the metal piece and its proximity to the coil. In fact, Aspire BVC replacement coils were removed from clearomizers and extracted with e-liquids, potentially adding metals with parts of coil joints. Moreover, because of our study design, metal concentrations in EC aerosols were not directly

measured. Finally, human health effects differ depending on metal speciation, therefore Cr and Ni speciation in e-liquids should be assessed in future research.

3.9 Conclusions

Metal concentrations were below detection (Cd) to very low in the seventeen bottle samples of e-liquid tested (Pb ≤ 16, Ni ≤ 76, and Cr ≤ 386 µg/kg). Cr and Ni concentrations increased markedly in the coil extracts compared to the dispenser bottles whereas Cd concentrations were < DL in most coil extracts. Furthermore, tested coils showed a different metal leaching capacity. The variability among the leached metal levels may be a consequence of the different metal compositions of each coil and how they react with e-liquids. Aspire BVC coils predominantly leached the highest mean (SD) Cr and Ni concentrations, 480 (116) and 1.23E+04 (2.8E+02) µg/kg, respectively. On the opposite, SS-317L coil released very low Cr and Ni concentrations when in contact with most e-liquids samples. The metal release capacity of a coil might be related to its quality material and resistance against corrosive attack, which can be associated with the formation of a protective layer (or passivation layer). Nicotine salts at 40 mg/mL enhanced Cr and Ni release from the coils but the type of organic acid used in the nicotine salt formulation may intervene in the metal transfer from the coil.

To assess metal exposure, a quantitative risk characterization was performed in the liquid and aerosol phases, using realistic vaping patterns to calculate threshold values for the targeted metal analytes. Threshold values calculated using occupational ILVs were much higher, which may be related to the greater acceptable risk for workers. Therefore, they might not be suitable for exposure assessment to EC aerosols. Firstly, none of the seventeen bottle samples were above safe concentrations for all tested metals prior to contact with coils. Secondly, among the coil extracts, 10.5% (6 out of 57 samples) of the coil + e-liquid combinations exceeded the SC limits for Ni, and only 3.5% (2 out 57 samples) of samples matched or exceeded the SC for Cr (III). Regarding Ni, 8.8% of samples (5 out of 57 samples), all obtained when in contact with Aspire BVC coil exceeded the SC of Ni for chronic exposure. The SCs were mainly surpassed in nicotine salts at high concentrations (NS 40 mg/mL, HN 40 mg/mL, and BR 40 mg/mL) and in pH 3 e-liquid ML 0 mg/mL. This being said, the Canadian government has recently published the Nicotine Concentration in Vaping Products Regulations to limit nicotine concentration to 20 mg/mL in e-liquids. This restriction, should help decrease Cr and Ni leaching from certain coils by removing

nicotine salts at high concentrations from the market. It should be noted, that Juul, Kanthal A-1 and SS-317L coils, when extracted with the 12 e-liquid studied, all showed Ni levels below the SCs for intermediate and chronic exposure. Moreover, no samples were above the SCs for Pb and Cd.

Concerning the aerosol phase, the equivalent daily doses of Ni for intermediate and chronic exposure were exceed by 1.8% and 8.8% of liquids with aspire BVC coils, emphasizing again the particular Ni release capacity of Aspire BVC coils compared to the other coils. None of all 57 coil + e-liquid combinations tested surpassed the EDD_{ILVS} for Cr (III) or for Pb. Even though the thresholds proposed in that study require further adjustment, they should be considered as a first attempt to establish limit values for metals present in e-liquids. These study results also bring attention to the variable total Ni and Cr release capacity among coils which should warrant further investigation. Additional research is required to better understand the mechanisms of metal transfer towards the e-liquid and the vapor phase and their speciation. Moreover, further research is required to carry out a more detailed risk assessment following exposure to metals from e-cigarettes.

3.10 Acknowledgments

The author acknowledges the financial support from Vaporus Labs and MITACS (Program Accelerate, application number IT16284). Moreover, gratitude is expressed to Jérôme Leroy for the technical support.

CHAPITRE 4 DISCUSSION GÉNÉRALE

Selon les résultats recueillis lors de la première étape de cette recherche, les concentrations de métaux dans les bouteilles de recharge étaient principalement en dessous des seuils de détection pour le Cd, très faibles pour le Pb (≤ 16(1.5) µg/kg) et le Ni (≤ 76(18) µg/kg) et faibles pour le Cr (≤ 386(15.6) µg/kg). Ces résultats sont en accord avec la littérature (Beauval et al., 2016; Famele et al., 2015; Laugesen, 2008; Olmedo et al., 2018; Zhao et al., 2020). En fait, Laugesen (2008) indique que la concentration de métaux traces (MT) dans les liquides de recharge se retrouverait entre 0.1–0.2 ppm. En relation à nos données de MT dans les bouteilles, celles-ci étaient autour de cet intervalle (< 400 µg/kg).

Certains chercheurs (Beauval et al. (2016)) suggèrent que les composés qui forment les arômes pourraient être une possible source de contamination de MT dans les e-liquides. Néanmoins, parmi les liquides des bouteilles de recharge analysés, le Hit Nicotine 40 mg/mL, un liquide sans arômes, avait la majeure concentration de Cr (386(15.6) µg/kg) en comparaison aux liquides aromatisés testés dans notre étude ce qui contredirait l'hypothèse de Beauval et al. (2016).

Il faut souligner que les concentrations de MT étaient variables parmi les liquides, cette variabilité pourrait être associée à leurs formulations, ainsi que le processus de production puisqu'il faut considérer que ces liquides proviennent de divers fournisseurs. Par exemple, Poulsen & Fiala (2020) ont étudié en détail les composants qui forment les e-liquides, en mettant l'accent sur les arômes, ils concluaient qu'un e-liquide d'un arôme spécifique peut se formuler de plusieurs manières d'une marque à l'autre.

Concernant les propriétés physicochimiques des liquides, leur densité se trouvait parmi 1.12 – 1.23 g/mL et leur intervalle de pH allait de très acide à très alcalin (3 – 9.5).

La composition métallique des éléments chauffants a été aussi quantifiée et les échantillons se sont divisés en 2 groupes, ceux du type jetable (p. ex., Juul et Aspire BVC) et ceux qui étaient reconstructibles (p. ex., Kanthal A-1, Nichrome 80 et Acier inoxydable 317L). En relation à ces derniers, leurs calibres 20, 22, 28 et 36 étaient inclus dans cette analyse. Le tableau 3.1 montre les concentrations des métaux (moyenne (écart-type) mg/kg), où les niveaux de Cr et Ni sont les plus élevés dans l'ensemble des échantillons, en comparaison au niveau de Cd (≤ 32.4 (6.2E-04) mg/kg) et de Pb (≤ 5.2 (1.9E-04) mg/kg).

Les niveaux élevés de Cr et de Ni dans Kanthal A-1, Nichrome 80 et Acier inoxydable 317L ont été aussi signalés dans les manuels et normes ASTM (Kanthal AB, 2003; Azo, 2012; ASTM B344-20, 1954). D'ailleurs, il n'existait pas un écart remarquable des concentrations de Cr et de Ni parmi les différents calibres d'un même type d'élément chauffant reconstructible (données non présentées).

La compagnie Juul déclare que ses éléments chauffants sont faits de Nichrome (80% – 37% Ni) (ASTM B344-20, 1954), ce qui justifierait la présence élevée de Ni par rapport aux autres analytes métalliques dans sa composition. Par contre, Aspire Vape qui fournit l'Aspire BVC ne dévoile pas la composition métallique ni le type d'élément chauffant de son produit.

Nous avons déterminé que Aspire BVC avait la teneur en Ni la plus élevée (9.6E+05 (8.0E-05) mg/kg), mais sa teneur en Cr était la plus faible (4.3E+04 (1.3E-04) mg/kg) environ 5 fois inférieures à la concentration maximale de Cr mesuré dans le Kanthal A-1, calibre 36 (2.1E+05 (1.9E-04) mg/kg). À cause de la haute concentration de Ni, il semble que l'élément chauffant Aspire BVC appartienne au groupe de Nikrotal (Kanthal AB, 2003), mais cette hypothèse peut être uniquement confirmée par le fournisseur.

Après avoir analysé la teneur métallique dans les éléments chauffants, ainsi que les 17 e-liquides, l'essai de relargage de métaux a été effectué avec 12 e-liquides et Kanthal A-1, Nichrome 80 et Acier inoxydable 317L de calibre 36, plus Juul et Aspire BVC, puisqu'un test préliminaire de relargage de métaux révélait que la quantité de métal cible lixivié par gramme de surface d'élément chauffant ($\mu g/g.mm^2$) a été supérieure avec le calibre 36.

Suite à la mise en contact avec les éléments chauffants, une augmentation dans les niveaux de métaux était observée dans tous échantillons de relargage. Par exemple, Melon 0 mg/mL (avec Aspire BVC), Papaya 3 mg/mL (avec Nichrome 80) et Nude base 3 mg/mL (avec Kanthal A-1) atteignaient les plus hautes concentrations de Ni, Pb et Cd chacun. Ces augmentations représentaient environ 1.8E+05-fois, 1.3E+05-fois, et 360-fois leurs concentrations initiales des bouteilles de chacun de ces liquides. De plus, la concentration moyenne (écart-type) de Cr des échantillons de relargage avec Hit Nicotine 40 mg/mL était 547(223) µg/kg, c'est-à-dire 1.4 fois la concentration initiale de Cr dans la bouteille de recharge de ce même liquide.

Étant donné que le Cr, le Ni et le Pb font partie de la composition des éléments chauffants, il est naturel de soupçonner qu'ils soient la source de relargage de métaux vers les e-liquides, (Aherrera

et al., 2017; Arnold, 2018; Loewenstein & Middlekauff, 2017; Olmedo et al., 2018; Zervas et al., 2020; Zhao, D. et al., 2020).

Pareillement, les résultats de ce test ont montré que la quantité d'analyte lixiviée peut varier selon l'élément chauffant. Pour examiner la capacité de relargage de métaux de chaque élément chauffant, les concentrations de MT trouvées dans les blancs de méthode ont été soustraites des échantillons de relargage. Il a été observé que les concentrations de Cr et de Ni relargués existaient dans la plupart des échantillons, tandis que la concentration de Cd se trouvait toujours en dessous du seuil de détection (< DL).

Les concentrations maximales de Cr et de Ni de relargués provenaient généralement de l'élément chauffant Aspire BVC, 480(116) et 1.23E+04(2.8E+02) µg/kg respectivement, par rapport aux autres éléments chauffants tels que Nichrome 80 (163 (30.1) et 589 (64.3) µg/kg), Juul (287 (87.0) et 331 (34.7) µg/kg) et Kanthal A-1 (138 (9.7) et 478 (6.3) µg/kg). La concentration importante et exceptionnelle de Pb relargué provenant du Nichrome 80 (334 (464) µg/kg), n'est pas une donnée fiable à cause de la haute valeur de son écart-type.

En ce qui concerne l'acier inoxydable 317L, sa capacité de relargage de métaux était beaucoup plus faible que le reste des éléments chauffants, étant donné que sa valeur maximale de métal relargué était égal à 36.1 (25.3) µg/kg pour le Ni. Ce comportement est clairement observé dans les graphiques S.1 – S.5.

Sauf pour Kanthal A-1, le test de rang signé de Wilcoxon indiquait que les concentrations de Ni relargué étaient significativement plus élevées ($p < 0.05$, $n = 11$) pour chaque élément chauffant, d'Aspire BVC, de Juul et de Nichrome 80 par rapport à l'acier inoxydable 317L.

Les résultats suggèrent que les e-liquides qui augmentaient la lixiviation de métaux étaient les sels de nicotine à très haute concentration (40mg/mL), et Melon 0mg/mL un liquide aromatisé sans nicotine avec pH très acide (pH = 3), cependant, ce dernier e-liquide augmentait le relargage uniquement avec l'élément chauffant Aspire BVC. Parmi les autres facteurs considérés au début de l'expérience, le rapport de la phase organique PG:GV n'a pas semblé contribuer au relargage de métaux.

En ce qui concerne le relargage de métaux de certains éléments chauffants par les sels de nicotine à forte concentration, cela pourrait être lié au pH des sels de nicotine, qui se trouve autour de 5 (El-

Hellani et al., 2015). La couche passive sur la surface des éléments métalliques n'est pas permanente, cette couche peut être dissoute dans un pH acide, en laissant l'anion du sel rentrer en contact avec la surface métallique et former un composé du sel métallique (Peters, 2002). Celui-ci serait stable, grâce à la formation de molécules de H_2O, sous-produits de la dégradation thermique des e-liquides (Goniewicz et al., 2013; Vautrot, 2016). Les molécules de H_2O donneraient de la stabilité au sel métallique, en favorisant le passage de métaux vers la phase liquide.

À ce jour les six acides organiques les plus utilisés dans les formulations de sels de nicotine: sont les acides lactique, benzoïque, glycolique, lévulinique, salicylique, malique et tartrique (Harvanko et al., 2020). Néanmoins, le rôle potentiel de l'acide organique dans le relargage de métaux n'a pas été encore étudié, raison pour laquelle, deux sels de nicotine sans arômes et à haute concentration étaient inclus parmi les liquides, Nude salt 40mg/mL et Hit nicotine 40 mg/mL formulés respectivement avec l'acide glycolique et l'acide benzoïque. Après la mise en contact avec Aspire BVC, Hit nicotine 40mg/mL a lixivié des concentrations plus élevées de Cr (480(116) µg/kg) et Ni (3,39E+03(4,1E+01) µg/kg), en comparaison aux concentrations atteintes par Nude salt 40 mg/mL (Cr = 24,1(3,2) µg/kg et Ni = 1,59E +03(7.0E+00) µg/kg). Les différences dans les concentrations de Cr et de Ni suggéreraient une influence potentielle de l'acide organique utilisé dans la formulation des sels de nicotine sur le relargage de métaux.

Toutefois, le gouvernement du Canada a récemment publié le Règlement sur la concentration en nicotine dans les produits de vapotage (Règlement sur la concentration en nicotine dans les produits de vapotage : DORS/2021-123) qui limite la concentration de nicotine jusqu'à 20 mg/mL dans les formulations des e-liquides. Par conséquent, le relargage de Cr et de Ni des éléments chauffants devrait diminuer suite à l'absence des sels de nicotine à haute concentration sur le marché canadien.

Pour évaluer l'impact des arômes sur le relargage de métaux, le e-liquide Melon 0 mg/mL a été inclus dans l'étude. Ce liquide avec un ratio 30:70 de PG:GV ne contient pas de nicotine et se trouve sous l'appellation de « mélange d'arômes », car l'arôme final est le résultat de l'union de multiples arômes individuels. Malgré son pH très acide, les concentrations de métaux relargués étaient faibles (environ 50 µg/kg, Fig. S1-A to S5-A) avec la plupart des éléments chauffants sauf pour le cas isolé avec Aspire BVC (Ni = 1.23E+04(2.8E+02) µg/kg). Ce résultat suggère qu'un pH très acide et une combinaison de multiples arômes n'augmente pas systématiquement le relargage de métaux.

Le niveau supérieur de lixiviation du Cr et du Ni de la part d'Aspire BVC par rapport aux autres éléments chauffants pourrait être lié à la composition de la couche passivation or en l'absence totale de celle-ci. En effet, la couche passive (processus de passivation) est composée d'oxydes métalliques (Dworniczak, 2016; Mulder et al., 2020), et sa formation est produite sur la surface de l'élément chauffant lors de son chauffage. La couche passive joue un rôle de barrière contre la corrosion auquel l'élément chauffant est soumis dû aux multiples cycles de chauffage et de refroidissement, en plus du contact constant avec l'e-liquide lors de sa vie utile, ce qui affecterait sa surface métallique (Farsalinos & Carvalho, 2015). La composition métallique de l'acier inoxydable 317L est 61 % Fe, 19 % Cr et 13 % Ni (Azo, 2012). La présence du Cr donne ses propriétés inoxydables à cet élément chauffant, où la couche passive est essentiellement de Cr_2O_3 (Dworniczak, 2016; Mulder et al., 2020).

La composition métallique d'Aspire BVC montre une concentration élevée de Ni suivi de Cr, pourtant cette information est insuffisante pour connaitre la composition de sa couche passive, ni sa qualité. Puisque, la présence du Cr dans Aspire BVC n'assurerait pas que celui-là fait partie de cette barrière; par exemple, la couche de passive du Kanthal A-1, qui possède aussi du Cr dans sa composition métallique, est composé de Al_2O_3 (Kanthal, 2018). Il semble que les niveaux de Cr et Ni relargués vers les e-liquides dépendraient de la composition de la couche passive.

Contrairement à certaines études précédentes, les échantillons évalués dans cette expérience ont été pré-traités par digestion acide, afin d'éviter les interférences non-spectroscopiques générées par la matrice organique (PG:GV) (Beauval et al., 2016; Ohashi, 2018). Les liquides analysés avaient différentes proportions de PG:GV et les essais préliminaires ont démontré des variations dans la quantification du Cr et du Ni par ICP-MS, lorsque l'échantillon était seulement dilué mais non digéré. De plus, CORESTA reconnaît la digestion acide comme méthode de traitement des e-liquides lors de la quantification de métaux (Joza, 2020).

Une caractérisation préliminaire des risques sur la santé a été réalisée, afin de vérifier si les niveaux de Cr, de Ni, de Pb et de Cd dans la phase liquide ainsi que dans la phase aérosol excédent les valeurs limites d'inhalation de ces métaux.

Dans la phase liquide, les valeurs de concentration maximale sûre de métaux (CMS) en mg/mL ont été établies comme les seuils permissibles, en utilisant la méthode de Poulsen et al. (2017). En relation aux bouteilles de recharge, il a été observé que leurs concentrations de MT étaient toujours

inférieures aux CMS. Bien que la présence de Cr ait été prédominante dans les échantillons de recharge, les niveaux identifiés ne dépassaient pas les valeurs de CMS pour Cr (III). La présence de Cr (VI) dans les liquides de recharge n'a pas été présumée puisque tous les échantillons choisis étaient de bouteilles scellées, sans aucun contact avec des pièces métalliques chauffées ou soumises à des conditions qui peuvent causer l'oxydation du Cr (III) à Cr (VI) (p.ex., l'exposition à la lumière UV, des températures élevées ou des agents oxydants). De même, les e-liquides analysés respectaient les exigences de l'AEMSA (2017) par rapport aux matières premières (c.-à-d. les arômes de classification GRAS, le PG et la GV de grade USP et la nicotine avec une pureté de 99 %).

L'apport combiné de MT des e-liquides eux-mêmes et des métaux relargués par l'élément chauffant ont été considérés dans l'analyse de l'exposition, donc les valeurs de $C_{M\ e\text{-}liquide}$ (mg/mL) ont été calculées à l'aide des données de relargage. Cette analyse montrait que 10.5% des échantillons (6 échantillons sur 57) dépassaient le CMS_{Ni}, tandis que 3.5% des échantillons (2 échantillons sur 57) dépassaient le $CMS_{Cr\ (III)}$. Les niveaux de Cr lixivié par Juul (7.5E-04(9.8E-05) mg/mL) et Aspire BVC (9.7E-4 (1.3E-04) mg/mL) avec Hit nicotine 40mg/mL étaient égale ou 1.3 fois supérieur que la $CMS_{Cr\ (III)}$ (7.5E-04 mg/mL). Concernant le Ni, seuls 8.8 % des échantillons en contact avec Aspire BVC dépassaient le CMS_{Ni} pour une exposition intermédiaire (une durée égale à 15 – 364 jours), égale à 1.5E-03 mg/mL et chronique de Ni (durée ≥1 an, 6.7 E-04 mg/mL). Ces valeurs de CMS_{Ni} ont été dépassées par les sels de nicotine à haute concentration (Nude salt 40 mg/mL, Hit nicotine 40 mg/mL et Berries 40 mg/mL) et Melon 0 mg/mL.

Par contre, les niveaux de Cr et Ni obtenus avec Juul, Kanthal A-1 et Acier inoxydable 317L plus les 12 e-liquides ne dépassaient pas les CMS_{Ni} et $CMS_{Cr\ (III).}$ Les CMS_{Pb} et CMS_{Cd} n'ont été dépassées par aucun échantillon nous permettant ainsi de conclure que le Pb et le Cd ne sont pas des éléments problématiques.

Parmi les données de $DTEJ_{Maérosol}$, uniquement 5 échantillons composés par Aspire BVC avec Melon 0mg/mL et quelques sels de nicotine à 40mg/mL (8.8% du total) dépasseraient le $DJÉ_{Ni}$ déterminé avec pour une exposition chronique, égal à 1.80E-03 mg. La combinaison de Aspire BVC avec Melon 0mg/mL ayant une valeur de $DTEJ_{Ni}$ qui a excédé en 3.5 fois et 8 fois le $DJÉ_{Ni}$ pour une exposition intermédiaire et chronique respectivement.

Les résultats obtenus lors de la caractérisation de risque montrent que l'élément chauffant d'Aspire BVC produirait de concentrations élevées de Ni lesquelles seraient supérieures aux CMS_{Ni} dans la phase liquide autant qu'aux $DJÉ_{Ni}$ dans la phase aérosol. Donc, Aspire BVC aurait un potentiel de relargage de Ni supérieur aux autres éléments chauffants.

Également, il était généralement observé un écart très important entre les résultats expérimentaux, c.-à-d. les données de $C_{Me\text{-}liquide}$ et $DTEJ_{M\ aérosol}$ par rapport aux valeurs limitées admissibles de CMS (phase liquide) et DJÉ (phase aérosol) calculées à partir de VLE de milieu du travail (p. ex. LER, PEL, etc.). Ces derniers étaient très supérieurs aux $C_{Me\text{-}liquide}$ et $DTEJ_{Maérosol.}$ La raison serait que les VLE de milieu du travail sont moins restrictives en acceptant un niveau de risque important pour les travailleurs p.ex., 1 sur 1000 à 1 sur 10 000 (Hubbs et al., 2015), puisqu'ils sont établis en considérant une période d'exposition de 8 heures pendant cinq jours avec 16 heures de récupération entre les quarts de travail et deux jours de récupération pendant la fin de semaine (Allen et al., 2016). Leur utilisation pour l'évaluation des risques ne serait peut-être pas pertinente à cause des seuils très permissifs.

Le fait que quelques données de $C_{Me\text{-}liquide}$ et $DTEJ_{Maérosol}$ ont excédé les seuils admissibles pour le Cr et Ni pourrait être une conséquence des hypothèses considérées au début de l'analyse telle qu'une absorption totale de métal égale à 80% ou un nombre élevé de bouffées (500 bouffées). Ceci a conduit à des valeurs de CMS assez faibles et donc à avoir une approche conservatrice pendant la caractérisation des risques.

Bien que d'autres ajustements soient nécessaires pour effectuer une caractérisation de risque plus précise, les méthodes utilisées dans le cadre de ce mémoire peuvent être un bon outil au niveau du dépistage, pour estimer quels éléments chauffants relargueront une haute concentration de métaux lorsqu'ils seront mis en contact avec un e-liquide déterminé, en considérant un nombre fixe de bouffées, en prévision de réduire l'exposition aux métaux par les dispositifs de CÉ.

Finalement, il faut considérer que la toxicité d'un métal dérive de la quantité qui arrive à la circulation systémique plutôt que de la concentration à laquelle une personne pourrait être exposée (Elikem et al., 2019). Donc, vu que les méthodes utilisées dans la caractérisation du risque aux métaux pourraient mener à une surestimation du risque pour la santé, nous avons également proposé un protocole pour quantifier le potentiel oxydatif (PO) via la diminution de l'acide ascorbique, l'antioxydant le plus abondant dans les poumons, afin de vérifier si les niveaux de

métaux relargués dans les e-liquides génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ÉRO) indicatrices d'une réponse inflammatoire au niveau pulmonaire. Étant donné les contraintes temporelles, cette évaluation n'a pas été exécutée au cours du projet de maîtrise. Néanmoins, le protocole développé est inclus dans l'annexe A de ce mémoire et est disponible pour les futures recherches sur ce sujet.

CHAPITRE 5 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

5.1. Conclusions

Ce travail de recherche avait pour objectifs de déterminer la teneur en Cd, Cr, Ni et Pb des bouteilles d'e-liquides les plus commercialisés au Canada, évaluer les facteurs qui pourraient influencer le relargage de métaux (p. ex., la composition chimique des liquides, leur pH, la composition métallique des éléments chauffants, etc.) et effectuer une évaluation de l'exposition et une caractérisation préliminaire des risques en utilisant les valeurs limites d'inhalation existantes de métaux.

La quantification de Cd, Cr, Ni et Pb par ICP-MS a montré que malgré les formulations variées des 17 e-liquides des bouteilles de recharge, les concentrations de métaux cibles dans les bouteilles des e-liquides étaient faibles (Pb ≤ 16, Ni ≤ 76, and Cr ≤ 386 µg/kg) ou sous les seuils de détection (Cd). De plus, la présence de ces MT dans les liquides serait considérée comme inoffensive pour la santé des utilisateurs, puisque la caractérisation du risque basée sur des paramètres réalistes de vapotage a indiqué que leurs $C_{M\ e\text{-}liquid}$ (mg/mL) ne dépassaient pas les concentrations maximales de substances (CMS) pour ces métaux.

Les données du test de relargage ont confirmé le rôle des éléments chauffants comme la source principale de lixiviation de métaux, notamment le Cr et le Ni, étant donné l'augmentation significative des concentrations de ces derniers dans les liquides résiduels par rapport aux concentrations initiales dans les bouteilles de recharge (ligne de base). Cependant, le Cd était indétectable dans la plupart des échantillons (Cd < DL).

Également, il a été observé que la capacité de relargage de métaux varie parmi les différents éléments chauffants. Ceci était en accord avec leur composition métallique variable et leur façon individuelle de réagir avec les e-liquides. Parmi les niveaux de Cr et de Ni relargués, Aspire BVC a atteint les valeurs les plus remarquables (Cr = 480(116) µg/kg et Ni = 1.23E+04(2.8E+02) µg/kg), contrairement à l'acier inoxydable 317L qui atteignait un niveau maximal très faible égal à 36.1 (25.3) µg/kg et ce pour le Ni.

Le phénomène de relargage de métaux serait une conséquence de la corrosion des éléments chauffants par le processus de dégradation thermique lors de l'interaction avec les e-liquides. Le potentiel de relargage de métal d'un élément chauffant pourrait donc être associé à sa résistance

contre la corrosion, à travers la formation de la couche passive laquelle joue le rôle de protection barrière, et à la qualité de ses matériaux de fabrication.

La plupart d'e-liquides qui ont augmenté le relargage de Cr et de Ni étaient les sels de nicotine à très haute concentration (par ex., Hit Nicotine 40 mg/mL, Nude Salt 40 mg/mL et Berries 40 mg/mL). Les sels de nicotine sont la forme protonée de la molécule de nicotine et grâce à leur pH acide, ils pourraient dissoudre la couche de passivation puis ils réagiraient avec la surface métallique des éléments chauffants. Cependant, à la lumière de nos résultats, il est possible que le type d'acide organique utilisé dans la formulation du sel influence la lixiviation de métaux vers le liquide. Il faut également rappeler que les e-liquides avec une concentration de nicotine supérieure à 20 mg/mL sont maintenant interdits au Canada.

La caractérisation préliminaire des risques posés par les métaux dans les échantillons de relargage dans la phase liquide a montré que 10.5% des échantillons (6 échantillons sur 57) ont dépassé la CMS_{Ni} avec 8.8% (5 échantillons sur 57) qui excédaient la CMS_{Ni} pour une exposition chronique. Toutefois, seuls 3.5% des échantillons (2 échantillons sur 57) égalaient ou excédaient la $CMS_{Cr\ (III)}$. Les combinaisons élément chauffant + e-liquide qui ont entraîné des valeurs supérieures aux CMS_{Ni} et $CMS_{Cr\ (III)}$ incluaient dans la plupart de cas Aspire BVC et les liquides de Hit Nicotine 40 mg/mL, Nude Salt 40 mg/mL, Berries 40 mg/mL et Melon 0 mg/mL.

Aucun échantillon de relargage n'a dépassé les CMS_{Pb} et CMS_{Cd}. De la même façon, les niveaux de Cr et Ni relargués par Juul, l'acier inoxydable 317L et Kanthal A-1 n'excédaient pas les CMS de ces métaux. Concernant la phase aérosol, seulement les $DTEJ_{Ni}$ produites par Aspire BVC ont excédé avec 1.8% des échantillons la DJE_{Ni} pour une exposition intermédiaire et 8.8% des échantillons pour une exposition chronique de DJE_{Ni}. Il est important de mentionner que les valeurs de $DTEJ_{Cr\ (III)}$ et $DTEJ_{Pb}$ n'ont été dépassées par aucun des 57 échantillons.

Il est possible que la capacité de relargage exceptionnelle de Cr et de Ni par l'élément chauffant Aspire BVC fut intensifiée à cause de la présence potentielle de fragments de joints de soudure récoltés lors de l'extraction de cet élément chauffant du clearomiseur.

Les résultats obtenus dans cette recherche montrent que l'exposition aux métaux selon nos paramètres d'expérimentation est nettement réduite, notamment par rapport au Cd et au Pb, en comparaison aux cigarettes traditionnelles. Les résultats appuient le fait que les CÉ sont des dispositifs capables de fournir de la nicotine aux utilisateurs, mais d'une façon moins pernicieuse

grâce à leur processus d'aérosolisation des e-liquides. Cette caractéristique soutient leur statut de produits de consommation importants en appui aux fumeurs dans leur lutte pour maintenir le sevrage tabagique.

La section suivante présente quelques recommandations à prendre en considération dans le cadre d'une poursuite des travaux de recherche à ce sujet.

5.2. Recommandations

Les points suivants peuvent être considérés pour la suite du projet de recherche.

En relation au test de relargage :

- Développer des méthodologies expérimentales standardisées qui recréent les conditions réelles de vapotage en ce qui concerne les volumes de bouffées, les températures de vapotage, les réglages de puissance, l'administration de nicotine et les distinctions entre les conditions sèches et humides ainsi que d'autres paramètres clés.
- Inclure toutes les parties du clearomiseur qui entrent en contact avec les e-liquides dans le déroulement du test de relargage de métaux, afin de voir si les autres pièces métalliques qui le forment augmentent les niveaux de métaux relargués vers les e-liquides et l'aérosol.
- Déterminer le rôle potentiel des différents types de dispositifs (système ouvert et système ferme) de CÉ dans le processus de relargage de métaux et si la variation de leurs valeurs de tension appliquée intervient dans le relargage de métaux.
- Augmenter le nombre de e-liquides analysés, ainsi que quantifier la présence d'autres analytes métalliques dans les e-liquides qui pourraient être potentiellement nocifs pour la santé telle que l'As, le Hg, l'étain (Sn), le Co, le Cu et le Zn, dans la phase liquide comme dans l'aérosol.
- Comparer le relargage de métaux parmi différents e-liquides du type « mélange d'arômes » afin de détecter si un mélange complexe d'arômes serait capable d'augmenter les niveaux de lixiviation de métaux.
- Approfondir l'étude des formulations de sels de nicotine et voir si l'acide organique qui forme ce sel intervient dans le relargage de métaux. Ces types d'e-liquides sont utilisés dans appareils avec des tensions appliquées plus basses et nécessitent une consommation journalière plus

faible d'e-liquide, mais leur concentration de nicotine est plus élevée que celle sous la forme de base libre.

- Ajouter d'autres éléments chauffants dans l'essai de relargage de métaux, pour identifier d'autres pièces métalliques avec une capacité de lixiviation de métaux semblable à celle d'Aspire BVC.
- Vérifier la présence de la couche de passivation d'Aspire BVC et sa composition métallique.
- Étudier le processus de passage de métaux de la phase liquide vers la phase aérosol et les mécanismes qui font varier les concentrations de métaux lors du passage.
- Vérifier si certaines conditions spécifiques telles que l'entreposage de produits, le matériel des bouteilles et les conditions de transport modifient la stabilité des e-liquides en générant des sous-produits qui pourraient influencer le relargage de métaux.

Par rapport à l'évaluation de l'exposition et l'analyse des risques sur la santé :

- Déterminer la spéciation du Cr et du Ni présents dans les liquides de relargage, ainsi que dans l'aérosol, afin de mieux évaluer les risques et afin d'identifier adéquatement les conséquences sur la santé lors d'une exposition chronique.
- Établir des valeurs limites d'inhalation de métaux qui considèrent les paramètres et les conditions de vapotage.
- Quantifier le PO afin de vérifier si les niveaux de métaux relargués dans les e-liquides causent la formation de radicaux libres.
- Réaliser des analyses in vitro pour quantifier la génération de cellules pro-inflammatoires (interleukines IL-6 et IL-8) dans les tissus pulmonaires suite à l'exposition avec l'aérosol des CÉ.

RÉFÉRENCES

AEMSA. (2017). *E-liquid manufacturing standards*. https://www.aemsa.org/wp-content/uploads/2017/03/AEMSA-Standards-v2.3.3.pdf

Agatemor, C., & Beauchemin, D. (2011). Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: a review. *Anal Chim Acta, 706*(1), 66-83. https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.08.027

Aherrera, A., Olmedo, P., Grau-Perez, M., Tanda, S., Goessler, W., Jarmul, S., Chen, R., Cohen, J. E., Rule, A. M., & Navas-Acien, A. (2017). The association of e-cigarette use with exposure to nickel and chromium: a preliminary study of non-invasive biomarkers. *Environmental Research, 159*, 313-320. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.014

Alderman, S. L., Song, C., Moldoveanu, S. C., & Cole, S. K. (2015). Particle Size Distribution of E-Cigarette Aerosols and the Relationship to Cambridge Filter Pad Collection Efficiency. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research, 26*(4), 183-190. https://doi.org/doi:10.1515/cttr-2015-0006

Allen, J. G., Flanigan, S. S., LeBlanc, M., Vallarino, J., MacNaughton, P., Stewart, J. H., & Christiani, D. C. (2016). Flavoring chemicals in E-cigarettes: diacetyl, 2,3-pentanedione, and acetoin in a sample of 51 products, including fruit-, candy-, and cocktail-flavored E-cigarettes. *Environmental Health Perspectives, 124*(6), 733-739. https://doi.org/doi:10.1289/ehp.1510185

Arnold, C. (2018). Between the tank and the coil: assessing how metals end up in e-cigarette liquid and vapor. *Environmental health perspectives, 126*(6), 064002-064002. https://doi.org/10.1289/EHP3451

ASTM. (1954). *Standard specification for drawn or rolled Nickel-Chromium and Nickel-Chromium-Iron alloys for electrical heating elements.* (ASTM B344-20). ASTM International. https://malinco.com/wp-content/uploads/ASTM-B-344-Chromel-A.pdf

ATSDR. (2005). *Toxicological profile for nickel*. U.S. Department of Health and Human Services. Retrieved Dec. 10, 2020 from https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf

ATSDR. (2012a). *Toxicological profile for Cadmium*. U.S. Department of Health and Human Services. Retrieved Nov. 20, 2020 from https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf

Ayres, J. G., Borm, P., Cassee, F. R., Castranova, V., Donaldson, K., Ghio, A., Harrison, R. M., Hider, R., Kelly, F., Kooter, I. M., Marano, F., Maynard, R. L., Mudway, I., Nel, A., Sioutas, C., Smith, S., Baeza-Squiban, A., Cho, A., Duggan, S., & Froines, J. (2008). Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential--a workshop report and consensus statement. *Inhal Toxicol, 20*(1), 75-99. https://doi.org/10.1080/08958370701665517

Azo. (2012). *Stainless steel - Grade 317*. Retrieved Jan 28, 2020 from https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=6799

Badea, M., Luzardo, O. P., González-Antuña, A., Zumbado, M., Rogozea, L., Floroian, L., Alexandrescu, D., Moga, M., Gaman, L., Radoi, M., Boada, L. D., & Henríquez-

Hernández, L. A. (2018). Body burden of toxic metals and rare earth elements in non-smokers, cigarette smokers and electronic cigarette users. *Environmental Research, 166*, 269-275. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.06.007

Bahl, V., Lin, S., Xu, N., Davis, B., Wang, Y. H., & Talbot, P. (2012). Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reprod Toxicol, 34*(4), 529-537. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.08.001

Ballard, G. E. (1983). *Explosion resistant battery cells.* (Brevet nº US4397919). Standard Oil company.

Bansal, V., & Kim, K.-H. (2016). Review on quantitation methods for hazardous pollutants released by e-cigarette (EC) smoking. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 78*, 120-133. https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.015

Barrington-Trimis, J. L., & Leventhal, A. M. (2018). Adolescents' Use of "Pod Mod" E-Cigarettes - Urgent Concerns. *N Engl J Med, 379*(12), 1099-1102. https://doi.org/10.1056/NEJMp1805758

Barrington-Trimis, J. L., Samet, J. M., & McConnell, R. (2014). Flavorings in electronic cigarettes: an unrecognized respiratory health hazard? *Jama, 312*(23), 2493-2494. https://doi.org/10.1001/jama.2014.14830

Bates, J. T., Fang, T., Verma, V., Zeng, L., Weber, R. J., Tolbert, P. E., Abrams, J. Y., Sarnat, S. E., Klein, M., Mulholland, J. A., & Russell, A. G. (2019). Review of Acellular Assays of Ambient Particulate Matter Oxidative Potential: Methods and Relationships with Composition, Sources, and Health Effects. *Environ Sci Technol, 53*(8), 4003-4019. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03430

Baulig, A., Garlatti, M., Bonvallot, V., Marchand, A., Barouki, R., Marano, F., & Baeza-Squiban, A. (2003). Involvement of reactive oxygen species in the metabolic pathways triggered by diesel exhaust particles in human airway epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 285*(3), L671-L679. https://doi.org/10.1152/ajplung.00419.2002

Beauval, N., Howsam, M., Antherieu, S., Allorge, D., Soyez, M., Garçon, G., Goossens, J. F., Lo-Guidice, J. M., & Garat, A. (2016). Trace elements in e-liquids - development and validation of an ICP-MS method for the analysis of electronic cigarette refills. *Regulatory Toxicology and Pharmacology, 79*, 144-148. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.03.024

Beauval, N., Antherieu, S., Soyez, M., Gengler, N., Grova, N., Howsam, M., Hardy, E. M., Fischer, M., Appenzeller, B. M. R., Goossens, J. F., Allorge, D., Garçon, G., Lo-Guidice, J. M., & Garat, A. (2017). Chemical Evaluation of Electronic Cigarettes: Multicomponent Analysis of Liquid Refills and their Corresponding Aerosols. *J Anal Toxicol, 41*(8), 670-678. https://doi.org/10.1093/jat/bkx054

Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Jr., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., Gill, L. J., & Heldreth, B. (2019, Nov/Dec). Safety Assessment of Glycerin as Used in Cosmetics. *Int J Toxicol, 38*(3_suppl), 6s-22s. https://doi.org/10.1177/1091581819883820

Behar, R. Z., Hua, M., & Talbot, P. (2015). Puffing Topography and Nicotine Intake of Electronic Cigarette Users. *PLOS ONE, 10*(2), e0117222. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117222

Behar, R. Z., Luo, W., Lin, S. C., Wang, Y., Valle, J., Pankow, J. F., & Talbot, P. (2016). Distribution, quantification and toxicity of cinnamaldehyde in electronic cigarette refill fluids and aerosols. *Tob Control, 25*(Suppl 2), ii94-ii102. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2016-053224

Behar, R. Z., Luo, W., McWhirter, K. J., Pankow, J. F., & Talbot, P. (2018). Analytical and toxicological evaluation of flavor chemicals in electronic cigarette refill fluids. *Scientific Reports, 8*(1), 8288. https://doi.org/10.1038/s41598-018-25575-6

Bekki, K., Uchiyama, S., Ohta, K., Inaba, Y., Nakagome, H., & Kunugita, N. (2014). Carbonyl compounds generated from electronic cigarettes. *International journal of environmental research and public health, 11*, 11192-11200. https://doi.org/10.3390/ijerph111111192

Bernhard, D., Rossmann, A., & Wick, G. (2005). Metals in cigarette smoke. *IUBMB Life, 57*(12), 805-809. https://doi.org/10.1080/15216540500459667

Bertholon, J. F., Becquemin, M. H., Annesi-Maesano, I., & Dautzenberg, B. (2013). Electronic cigarettes: a short review. *Respiration, 86*(5), 433-438. https://doi.org/10.1159/000353253

Bertrand, D., & Bricard, D. (2015). Real-Time Characterization of E-Cigarettes Use: The 1 Million Puffs Study. *Journal of Addiction Research & Therapy, 6*. https://doi.org/10.4172/2155-6105.1000229

BfR. (2015). *Nikotinfreie E-shishas bergern gesundheitliche risiken* (010/2015). Bundesintitut fur Risikobewertung. Retrieved Oct. 15, 2021 from https://www.bfr.bund.de/cm/343/nikotinfreie-e-shishas-bergen-gesundheitliche-risiken.pdf

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J, 5*(1), 9-19. https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613

Bitzer, Z. T., Goel, R., Reilly, S. M., Elias, R. J., Silakov, A., Foulds, J., Muscat, J., & Richie, J. P., Jr. (2018, May 20). Effect of flavoring chemicals on free radical formation in electronic cigarette aerosols. *Free Radic Biol Med, 120*, 72-79. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.020

Blair, S. L., Epstein, S. A., Nizkorodov, S. A., & Staimer, N. (2015). A Real-Time Fast-Flow Tube Study of VOC and Particulate Emissions from Electronic, Potentially Reduced-Harm, Conventional, and Reference Cigarettes. *Aerosol science and technology : the journal of the American Association for Aerosol Research, 49*(9), 816-827. https://doi.org/10.1080/02786826.2015.1076156

Bollecker, J.-R. (2013). *Comment fonctionne une cigarette électronique?* Retrieved Sep. 20, 2021 from https://www.linternaute.com/lifestyle/art-de-vivre/1175437-comment-fonctionne-une-cigarette-electronique-premiere-partie/

Bornmann, G. (1954). Grundwirkungen der glykile und ihre bedeutung für die toxizatät. *Arzneimittelforschung, 4*, 643-646.

Breland, A., Soule, E., Lopez, A., Ramôa, C., El-Hellani, A., & Eissenberg, T. (2017). Electronic cigarettes: what are they and what do they do? *Annals of the New York Academy of Sciences, 1394*(1), 5-30. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nyas.12977

Brown, C. J., & Cheng, J. M. (2014). Electronic cigarettes: product characterisation and design considerations. *Tobacco Control, 23*(suppl 2), ii4-ii10. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2013-051476

Buettner, G. R., & Jurkiewicz, B. A. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat Res, 145*(5), 532-541.

Burstyn, I. (2014). Peering through the mist: systematic review of what the chemistry of contaminants in electronic cigarettes tells us about health risks. *BMC Public Health, 14*(1), 18. https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-18

Calverley, P., & Georgopoulos, D. (2006). Chronic obstructive pulmonary disease: symptoms and signs. *European Respiratory Monograph, 38*, 7.

Canadian lung association. (2016). *Breating*. Canadian lung association. Retrieved November 30, 2020 from https://www.lung.ca/lung-health/lung-info/breathing

Caruana, D. (2018). *Farsalinos about the presence of metals in e-liquids*. Retrieved Sep. 20, 2021 from https://www.vapingpost.com/2018/02/27/farsalinos-about-the-presence-of-metals-in-e-liquids/

Charoensuk, V., Gati, W. P., Weinfeld, M., & Le, X. C. (2009). Differential cytotoxic effects of arsenic compounds in human acute promyelocytic leukemia cells. *Toxicol Appl Pharmacol, 239*(1), 64-70. https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.05.016.

Chen, C., Zhuang, Y.-L., & Zhu, S.-H. (2016). E-Cigarette Design Preference and Smoking Cessation: A U.S. Population Study. *American Journal of Preventive Medicine, 51*(3), 356-363. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.amepre.2016.02.002

Chen, I.-L. (2012). FDA Summary of Adverse Events on Electronic Cigarettes. *Nicotine & Tobacco Research, 15*(2), 615-616. https://doi.org/10.1093/ntr/nts145

Chen, L. C., & Lippmann, M. (2009). Effects of metals within ambient air particulate matter (PM) on human health. *Inhal Toxicol, 21*(1), 1-31. https://doi.org/10.1080/08958370802105405

Chen, R., Aherrera, A., Isichei, C., Olmedo, P., Jarmul, S., Cohen, J. E., Navas-Acien, A., & Rule, A. M. (2018, Nov). Assessment of indoor air quality at an electronic cigarette (Vaping) convention. *Journal of exposure science & environmental epidemiology, 28*(6), 522-529. https://doi.org/10.1038/s41370-017-0005-x

Chen, W., Wang, P., Ito, K., Fowles, J., Shusterman, D., Jaques, P. A., & Kumagai, K. (2018). Measurement of heating coil temperature for e-cigarettes with a “top-coil” clearomizer. *PLOS ONE, 13*(4), e0195925. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195925

Cheng, T. (2014). Chemical evaluation of electronic cigarettes. *Tob Control, 23 Suppl 2*(Suppl 2), ii11-17. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2013-051482

Chiba, M., & Masironi, R. (1992). Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. *Bull World Health Organ, 70*(2), 269-275.

Choi, H., Schmidbauer, N., Spengler, J., & Bornehag, C.-G. (2010). Sources of Propylene Glycol and Glycol Ethers in Air at Home. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 7*(12), 4213-4237. https://www.mdpi.com/1660-4601/7/12/4213

Chowdhury, R., Ramond, A., O'Keeffe, L. M., Shahzad, S., Kunutsor, S. K., Muka, T., Gregson, J., Willeit, P., Warnakula, S., Khan, H., Chowdhury, S., Gobin, R., Franco, O. H., & Di Angelantonio, E. (2018, Aug 29). Environmental toxic metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ, 362*, k3310. https://doi.org/10.1136/bmj.k3310

Chun, L. F., Moazed, F., Calfee, C. S., Matthay, M. A., & Gotts, J. E. (2017). Pulmonary toxicity of e-cigarettes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 313*(2), L193-l206. https://doi.org/10.1152/ajplung.00071.2017

Church, D. F., & Pryor, W. A. (1985). Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environmental health perspectives, 64*, 111-126. https://doi.org/10.1289/ehp.8564111

Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., & Eation, A. D. (1999). *Standard methods for the examination of water and wateswater (12e éd.).* American Public Health Association.

Cobb, N. K., Byron, M. J., Abrams, D. B., & Shields, P. G. (2010). Novel nicotine delivery systems and public health: the rise of the "e-cigarette". *American journal of public health, 100*(12), 2340-2342. https://doi.org/10.2105/AJPH.2010.199281

Colijn, H. O., & Mikheev, V. (2018). TEM and EDX of metallic nanoparticles in e-cigarette aerosol. *Microscopy and Microanalysis, 24*, 1188. https://doi.org/10.1017/s1431927618006426

Colombo, C., Monhemius, A. J., & Plant, J. A. (2008). Platinum, palladium and rhodium release from vehicle exhaust catalysts and road dust exposed to simulated lung fluids. *Ecotoxicol Environ Saf, 71*(3), 722-730. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.11.011

CORESTA. (2015). *2014 Electronic cigarette aerosol parameters study*. CORESTA - E-cigarette task force.

CORESTA. (2018). *CORESTA Guide N 22: Technical guide for the selection of appropriate intense vaping regimes for E-vapour devices*. Cooperation centre for scientific research relative to tobacco. https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/Guide-No22_VapingRegimesE-VapourDevices_Feb18.pdf

Cosmetic ingredient review (CIR). (2014). *Safety assessment of glycerin as used in cosmetics: Draft report for panel review*. Retrieved Sept. 29, 2020 from http://www.cir-safety.org/sites/default/files/glycerin.pdf

Cosmetic ingredient review (CIR). (2015). *Safety assessment of glycerin as used in cosmetics: Final report*. Retrieved Oct. 15, 2020 from http://www.cir-safety.org/sites/default/filles/glycer_122014_FR.pdf

Cui, H., Zhao, L., Fan, M., Lui, S., Chen, L., Cai, J., Qin, Y., Ding, X., & Jiang, Z. (2017). *Study on vaporisation temperature of elecronic cigarette* [Poster]. CORESTA Smoke-Techno

Meeting, China. https://www.coresta.org/abstracts/study-vaporisation-temperature-electronic-cigarette-30736.html

Dawkins, L. E., Kimber, C. F., Doig, M., Feyerabend, C., & Corcoran, O. (2016). Self-titration by experienced e-cigarette users: blood nicotine delivery and subjective effects. *Psychopharmacology, 233*(15-16), 2933-2941. https://doi.org/10.1007/s00213-016-4338-2

Delfino, R. J., Staimer, N., Tjoa, T., Gillen, D. L., Schauer, J. J., & Shafer, M. M. (2013). Airway inflammation and oxidative potential of air pollutant particles in a pediatric asthma panel. *Journal of exposure science & environmental epidemiology, 23*(5), 466-473. https://doi.org/10.1038/jes.2013.25

Delrieu, A., Osman, J., Sommero, P., & Baril, S. (2013). *Rapport et avis d'experts sur l'e-cigarette* Office Français de prévention du tabagisme (OFT). https://www.ofta-asso.fr/docatel/Rapport_e-cigarette_VF_1.pdf

Donaldson, K., Stone, V., Seaton, A., & MacNee, W. (2001). Ambient particle inhalation and the cardiovascular system: potential mechanisms. *Environ Health Perspect, 109* (Suppl 4), 523-527. https://doi.org/10.1289/ehp.01109s4523

Dworniczak, M. (2016). *E-cigarette coils from a chemist's point of view*. Retrieved Jan. 5, 2021 from https://nicotinepolicy.net/blogs/guest-blogs/23-miroslaw-dworniczak/138-e-cigarette-coils-from-a-chemist-s-point-of-view

Eaton, D. L., Kwan, L. Y., & Stratton, K. (2018). Public health consequences of e-cigarettes. Dans *Public Health Consequences of E-Cigarettes*. National Academies Press (US).

El-Hellani, A., El-Hage, R., Baalbaki, R., Salman, R., Talih, S., Shihadeh, A., & Saliba, N. A. (2015). Free-Base and Protonated Nicotine in Electronic Cigarette Liquids and Aerosols. *Chemical Research in Toxicology, 28*(8), 1532-1537. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00107

Elikem, E., Laird, B. D., Hamilton, J. G., Stewart, K. J., Siciliano, S. D., & Peak, D. (2019). Effects of chemical speciation on the bioaccessibility of zinc in spiked and smelter-affected soils. *Environmental Toxicology and Chemistry, 38*(2), 448-459. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/etc.4328

Etter, J. F. (2016). Throat hit in users of the electronic cigarette: An exploratory study. *Psychol Addict Behav, 30*(1), 93-100. https://doi.org/10.1037/adb0000137

Etter, J. F., & Bugey, A. (2017). E-cigarette liquids: Constancy of content across batches and accuracy of labeling. *Addict Behav, 73*, 137-143. https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2017.05.012

Famele, M., Ferranti, C., Abenavoli, C., Palleschi, L., Mancinelli, R., & Draisci, R. (2015). The chemical components of electronic cigarette cartridges and refill fluids: review of analytical methods. *Nicotine & tobacco research: official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco, 17*(3), 271-279. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ntr/ntu197

Farsalinos, K., & Carvalho, P. (2015). Dry-burning metal coils: is it a good thing? *E-cigarette research*. http://www.ecigarette-research.org/research/index.php/research/research-2015/212-db

Farsalinos, K., Kistler, K., Gillman, G., & Voudris, V. (2015). Evaluation of electronic cigarette liquids and aerosol for the presence of selected inhalation toxins. *Nicotine and Tobacco Research, 17*(2), 168-174. https://doi.org/10.1093/ntr/ntu176

Farsalinos, K., Voudris, V., & Poulas, K. (2015). Are metals emitted from electronic cigarettes a reason for health concern? A risk-assessment analysis of currently available literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 12*(5), 5215-5232. https://doi.org/10.3390/ijerph120505215

Farsalinos, K. E., & Gillman, G. (2018). Carbonyl Emissions in E-cigarette Aerosol: A Systematic Review and Methodological Considerations. *Frontiers in Physiology, 8*(1119). Review. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01119

Farsalinos, K. E., Gillman, G., Poulas, K., & Voudris, V. (2015). Tobacco-Specific Nitrosamines in Electronic Cigarettes: Comparison between Liquid and Aerosol Levels. *International journal of environmental research and public health, 12*(8), 9046-9053. https://doi.org/10.3390/ijerph120809046

Farsalinos, K. E., Romagna, G., Allifranchini, E., Ripamonti, E., Bocchietto, E., Todeschi, S., Tsiapras, D., Kyrzopoulos, S., & Voudris, V. (2013). Comparison of the cytotoxic potential of cigarette smoke and electronic cigarette vapour extract on cultured myocardial cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 10*(10), 5146-5162. https://doi.org/10.3390/ijerph10105146

Farsalinos, K. E., Romagna, G., Tsiapras, D., Kyrzopoulos, S., Spyrou, A., & Voudris, V. (2013). Impact of flavour variability on electronic cigarette use experience: an internet survey. *Int J Environ Res Public Health, 10*(12), 7272-7282. https://doi.org/10.3390/ijerph10127272

Farsalinos, K. E., Romagna, G., Tsiapras, D., Kyrzopoulos, S., & Voudris, V. (2013). 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*(6), 2500-2514. https://doi.org/10.3390/ijerph10062500

Farsalinos, K. E., & Voudris, V. (2014). E-cigarette use and indoor air quality: methodological limitations: response to W. Schober et al.'s "use of electronic cigarettes (e-cigarettes) impairs indoor air quality and increases FeNO levels of e-cigarette consumers". *Int J Hyg Environ Health, 217*(6), 705-706. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.02.001

Farsalinos, K. E., Voudris, V., & Poulas, K. (2015). E-cigarettes generate high levels of aldehydes only in ‘dry puff’ conditions. *Addiction, 110*(8), 1352-1356. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/add.12942

Farsalinos, K. E., Voudris, V., Spyrou, A., & Poulas, K. (2017). E-cigarettes emit very high formaldehyde levels only in conditions that are aversive to users: A replication study under verified realistic use conditions. *Food Chem Toxicol, 109*(Pt 1), 90-94. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.044

Fernández, E., Ballbè, M., Sureda, X., Fu, M., Saltó, E., & Martínez-Sánchez, J. M. (2015). Particulate Matter from Electronic Cigarettes and Conventional Cigarettes: a Systematic Review and Observational Study. *Curr Environ Health Rep, 2*(4), 423-429. https://doi.org/10.1007/s40572-015-0072-x

Fitzpatrick, A. M., Teague, W. G., Holguin, F., Yeh, M., & Brown, L. A. (2009). Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *J Allergy Clin Immunol, 123*(1), 146-152.e148. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.10.047

Flora, J. W., Meruva, N., Huang, C. B., Wilkinson, C. T., Ballentine, R., Smith, D. C., Werley, M. S., & McKinney, W. J. (2016). Characterization of potential impurities and degradation products in electronic cigarette formulations and aerosols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology, 74*, 1-11. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.11.009

Food and Drug Administration. (2012). *Harmful and potentially harmful constituents in tobacco products and tobacco smoke: Established list*. Retrieved Jun. 8, 2020 from https://www.fda.gov/tobacco-products/rules-regulations-and-guidance/harmful-and-potentially-harmful-constituents-tobacco-products-and-tobacco-smoke-established-list

Fuoco, F. C., Buonanno, G., Stabile, L., & Vigo, P. (2014). Influential parameters on particle concentration and size distribution in the mainstream of e-cigarettes. *Environmental Pollution, 184*, 523-529. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.010

Gad, S. C., Cassidy, C. D., Aubert, N., Spainhour, B., & Robbe, H. (2006). Nonclinical vehicle use in studies by multiple routes in multiple species. *Int J Toxicol, 25*(6), 499-521. https://doi.org/10.1080/10915810600961531

Gamble, J. L. (1941). *Chemical anatomy, physiology and pathology of extracellular fluid: a lecture syllabus.* Harvard University Press.

García-Esquinas, E., Pollan, M., Tellez-Plaza, M., Francesconi, K. A., Goessler, W., Guallar, E., Umans, J. G., Yeh, J., Best, L. G., & Navas-Acien, A. (2014, Apr). Cadmium exposure and cancer mortality in a prospective cohort: the strong heart study. *Environ Health Perspect, 122*(4), 363-370. https://doi.org/10.1289/ehp.1306587

Geiss, O., Bianchi, I., Barahona, F., & Barrero-Moreno, J. (2015). Characterisation of mainstream and passive vapours emitted by selected electronic cigarettes. *Int J Hyg Environ Health, 218*(1), 169-180. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.10.001

Gholap, V. V., Heyder, R. S., Kosmider, L., & Halquist, M. S. (2020). An Analytical Perspective on Determination of Free Base Nicotine in E-Liquids. *Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2020*, 6178570. https://doi.org/10.1155/2020/6178570

Godri, K. J., Duggan, S. T., Fuller, G. W., Baker, T., Green, D., Kelly, F. J., & Mudway, I. S. (2010). Particulate Matter Oxidative Potential from Waste Transfer Station Activity. *Environmental Health Perspectives, 118*(4), 493-498. https://doi.org/doi:10.1289/ehp.0901303

Goel, R., Durand, E., Trushin, N., Prokopczyk, B., Foulds, J., Elias, R. J., & Richie, J. P., Jr. (2015). Highly reactive free radicals in electronic cigarette aerosols. *Chem Res Toxicol, 28*(9), 1675-1677. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00220

Goniewicz, M. L., Hajek, P., & McRobbie, H. (2014). Nicotine content of electronic cigarettes, its release in vapour and its consistency across batches: regulatory implications. *Addiction, 109*(3), 500-507. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/add.12410

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., & Benowitz, N. (2014). Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tobacco Control, 23*(2), 133-139. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2012-050859

Goniewicz, M. L., Kuma, T., Gawron, M., Knysak, J., & Kosmider, L. (2013). Nicotine levels in electronic cigarettes. *Nicotine Tob Res, 15*(1), 158-166. https://doi.org/10.1093/ntr/nts103

Goniewicz, M. L., Smith, D. M., Edwards, K. C., Blount, B. C., Caldwell, K. L., Feng, J., Wang, L., Christensen, C., Ambrose, B., Borek, N., van Bemmel, D., Konkel, K., Erives, G., Stanton, C. A., Lambert, E., Kimmel, H. L., Hatsukami, D., Hecht, S. S., Niaura, R. S., Travers, M., Lawrence, C., & Hyland, A. J. (2018). Comparison of Nicotine and Toxicant Exposure in Users of Electronic Cigarettes and Combustible Cigarettes. *JAMA Network Open, 1*(8), e185937-e185937. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.5937

Gosselin, M. (2019). *Bioaccessibilité pulmonaire et potentiel oxydatif des métaux associés aux particules fines de sols contaminés à l'arséniate de cuivre chromaté (ACC)* [Master's thesis, Polytechnique Montréal]. https://publications.polymtl.ca/3813/

Gosselin, M., & Zagury, G. J. (2020). Metal(loid)s inhalation bioaccessibility and oxidative potential of particulate matter from chromated copper arsenate (CCA)-contaminated soils. *Chemosphere, 238*, 124557. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124557

Government of Canada. (2021a). *Canada Gazette, Part I, Volume 155, Number 25: Order amending schedule 2 and 3 to the tobacco and vaping products act (flavours)*. Government of Canada. https://gazette.gc.ca/rp-pr/p1/2021/2021-06-19/html/reg2-eng.html

Government of Canada. (2021b). *Canada Gazette, Part I, Volume 155, Number 25: Standards for vaping products' sensory attributes regulations*. Government of Canada. https://gazette.gc.ca/rp-pr/p1/2021/2021-06-19/html/reg3-eng.html?fbclid=IwAR2LGKopUd_iVQXQO22P6jWCAkxfQVAYLJZ4-NbZoVmDwWeEbXw5uPI80IA

Grabovac, I., Oberndorfer, M., Fischer, J., Wiesinger, W., Haider, S., & Dorner, T. E. (2021). Effectiveness of Electronic Cigarettes in Smoking Cessation: A Systematic Review and Meta-analysis. *Nicotine Tob Res, 23*(4), 625-634. https://doi.org/10.1093/ntr/ntaa181

Grana, R., Benowitz, N., & Glantz, S. A. (2013). *Background paper on e-cigarettes (electronic nicotine delivery systems).* UCSF: Center for tobacco control research and eduation. https://escholarship.org/uc/item/13p2b72n

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5e éd.). Oxford University Press.

Halliwell, B. B., & Poulsen, H. E. (2006). *Cigarette smoke and oxidative stress*. Springer.

Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan., P. D. (2001). *PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis.* (Version 4.11). University of Oslo. https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/

Harvanko, A. M., Havel, C. M., Jacob, P., & Benowitz, N. L. (2020). Characterization of nicotine salts in 23 electronic cigarette refill liquids. *Nicotine Tob Res, 22*(7), 1239-1243. https://doi.org/10.1093/ntr/ntz232

Hatch, G. E. (1992). *Comparative biochemistry of airway lining fluid*. CRC Press, Inc.

Havel, C. M., Benowitz, N. L., Jacob, P., 3rd, & St Helen, G. (2017). An electronic cigarette vaping machine for the characterization of aerosol delivery and composition. *Nicotine Tob Res, 19*(10), 1224-1231. https://doi.org/10.1093/ntr/ntw147

Health Canada. (2012). *Vaping and quitting smoking*. Government of Canada. Retrieved November 30, 2020 from https://www.canada.ca/en/health-canada/services/smoking-tobacco/vaping/smokers.html

Health Canada. (2017a). *Bill S-5, an Act to amend the Tobacco Act and the Non-smokers' Health Act and to make consequential amendments to other Acts: An overview. Government of Canada.* Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/programs/consultation-regulation-vaping-products/s5-overview-regulate-vaping-products.html

Health Canada. (2017b). *Questions and Answers Proposed Tobacco and Vaping Products Act*. Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/programs/consultation-regulation-vaping-products/questions-answers-regulate-vaping-products.html

Health Canada. (2018a). *Guidance on Vaping Products not Marketed for a Therapeutic Use*. Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/product-safety/vaping-not-marketed-therapeutic-use.html

Health Canada. (2018b). *Vaping*. Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/smoking-tobacco/vaping.html

Health Canada. (2020). *Vaping and quitting smoking*. Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/smoking-tobacco/vaping/smokers.html

Health Canada. (2021). *Acrolein in your home*. Government of Canada. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/acrolein-home.html

Hecht, S. S. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol, 11*(6), 559-603. https://doi.org/10.1021/tx980005y

Hecht, S. S., & Hoffmann, D. (1988). Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke. *Carcinogenesis, 9*(6), 875-884. https://doi.org/10.1093/carcin/9.6.875

Hennekens, C. H., Buring, J. E., Manson, J. E., Stampfer, M., Rosner, B., Cook, N. R., . . . Peto, R. (1996). Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med, 334*(18), 1145-1149. https://doi.org/10.1056/nejm199605023341801

Henry, T. S., Kligerman, S. J., Raptis, C. A., Mann, H., Sechrist, J. W., & Kanne, J. P. (2020). Imaging Findings of Vaping-Associated Lung Injury. *AJR Am J Roentgenol, 214*(3), 498-505. https://doi.org/10.2214/ajr.19.22251

Herrington, J. S., & Myers, C. (2015). Electronic cigarette solutions and resultant aerosol profiles. *J Chromatogr A, 1418*, 192-199. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.034

Hess, C. A., Olmedo, P., Navas-Acien, A., Goessler, W., Cohen, J. E., & Rule, A. M. (2017). E-cigarettes as a source of toxic and potentially carcinogenic metals. *Environmental Research, 152*, 221-225. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.09.026

Hubbs, A. F., Cummings, K. J., McKernan, L. T., Dankovic, D. A., Park, R. M., & Kreiss, K. (2015). Comment on Farsalinos et al., "Evaluation of Electronic Cigarette Liquids and Aerosol for the Presence of Selected Inhalation Toxins". *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, *17*(10), 1288–1289. https://doi.org/10.1093/ntr/ntu338

Hubbs, A., Cumpston, A., Goldsmith, W., Battelli, L., Kashon, M., Jackson, M., . . . Sriram, K. (2012). Respiratory and Olfactory Cytotoxicity of Inhaled 2,3-Pentanedione in Sprague-Dawley Rats. *The American Journal of Pathology, 181*(3), 829-844. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.05.021

Hubbs, A., Goldsmith, W., Kashon, M., Frazer, D., Mercer, R., Battelli, L., . . . Castranova, V. (2008). Respiratory toxicologic pathology of inhaled diacetyl in sprague-dawley rats. *Toxicol Pathol, 36*(2), 330-344. https://doi.org/10.1177/0192623307312694

Hutzler, C., Paschke, M., Kruschinski, S., Henkler, F., Hahn, J., & Luch, A. (2014). Chemical hazards present in liquids and vapors of electronic cigarettes. *Archives of Toxicology, 88*(7), 1295-1308. https://doi.org/10.1007/s00204-014-1294-7

IARC. (1990). *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Chromium, nickel and welding* (vol. 49). International Agency for Research on Cancer.

IARC. (2004). IARC Classifies Formaldehyde as Carcinogenic. *Oncology Times, 26*(13), 72. https://doi.org/10.1097/01.Cot.0000292246.11180.99

IOM. (2001). *Clearing the Smoke: Assessing the Science Base for Tobacco Harm Reduction*. The National Academies Press.

Iriyama, K., Yoshiura, M., Iwamoto, T., & Ozaki, Y. (1984). Simultaneous determination of uric and ascorbic acids in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem, 141*(1), 238-243. https://doi.org/10.1016/0003-2697(84)90451-2

Joza, P., Wagstaff, W. & Gillman, G. (2020). *Metal analysis method for e-liquids*. CORESTA. https://www.coresta.org/metals-analysis-method-e-liquids-33731.html

JUUL. (2020). *What materials makeup JUUL and the JUULpods?* Retrieved Feb 20, 2021 from https://support.juul.com/s/article/What-materials-makeup-JUUL-and-the-JUULpods-UnitedStates

Kamilari, E., Farsalinos, K., Poulas, K., Kontoyannis, C. G., & Orkoula, M. G. (2018). Detection and quantitative determination of heavy metals in electronic cigarette refill liquids using Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry. *Food Chem Toxicol, 116*(Pt B), 233-237. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.035

Kanthal. (2018). *Resistance heating alloys for electric home appliances*. https://www.materials.sandvik/en/

Kanthal AB. (2003). *Kanthal Handbook - Heating alloys for electronic household appliances*. Primatryck. http://www.west-l.com/uploads/tdpdf/06080303.pdf

Karlsen, A., Blomhoff, R., & Gundersen, T. E. (2007). Stability of whole blood and plasma ascorbic acid. *Eur J Clin Nutr, 61*(10), 1233-1236. https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602655

Kastury, F., Smith, E., & Juhasz, A. L. (2017). A critical review of approaches and limitations of inhalation bioavailability and bioaccessibility of metal(loid)s from ambient particulate matter or dust. *Sci Total Environ, 574*, 1054-1074. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.056

Kaur, G., Pinkston, R., Mclemore, B., Dorsey, W. C., & Batra, S. (2018). Immunological and toxicological risk assessment of e-cigarettes. *European Respiratory Review, 27*(147), 170119. https://doi.org/10.1183/16000617.0119-2017

Kelly, F., Anderson, H. R., Armstrong, B., Atkinson, R., Barratt, B., Beevers, S., . . . Wilkinson, P. (2011). The impact of the congestion charging scheme on air quality in London. Part 1. Emissions modeling and analysis of air pollution measurements. *Res Rep Health Eff Inst*(155), 5-71.

Khlystov, A., & Samburova, V. (2016). Flavoring compounds dominate toxic aldehyde production during e-cigarette vaping. *Environmental Science & Technology, 50*(23), 13080-13085. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05145

Kim, H. J., & Shin, H. S. (2013). Determination of tobacco-specific nitrosamines in replacement liquids of electronic cigarettes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A, 1291*, 48-55. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.035

Kosmider, L., Sobczak, A., Fik, M., Knysak, J., Zaciera, M., Kurek, J., & Goniewicz, M. L. (2014). Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage. *Nicotine Tob Res, 16*(10), 1319-1326. https://doi.org/10.1093/ntr/ntu078

Kosmider, L., Sobczak, A., Prokopowicz, A., Kurek, J., Zaciera, M., Knysak, J., . . . Goniewicz, M. L. (2016). Cherry-flavoured electronic cigarettes expose users to the inhalation irritant, benzaldehyde. *Thorax, 71*(4), 376-377. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207895

Kreiss, K., Gomaa, A., Kullman, G., Fedan, K., Simoes, E. J., & Enright, P. L. (2002). Clinical bronchiolitis obliterans in workers at a microwave-popcorn plant. *N Engl J Med, 347*(5), 330-338. https://doi.org/10.1056/NEJMoa020300

Krüsemann, E. J. Z., Boesveldt, S., de Graaf, K., & Talhout, R. (2018). An E-Liquid Flavor Wheel: A Shared Vocabulary Based on Systematically Reviewing E-Liquid Flavor Classifications in Literature. *Nicotine Tob Res, 21*(10), 1310-1319. https://doi.org/10.1093/ntr/nty101

Kuehn, B. M. (2009). FDA: Electronic Cigarettes May Be Risky. *JAMA, 302*(9), 937-937. https://doi.org/10.1001/jama.2009.1245

Kuo, C. C., Moon, K. A., Wang, S. L., Silbergeld, E., & Navas-Acien, A. (2017). The Association of Arsenic Metabolism with Cancer, Cardiovascular Disease, and Diabetes: A Systematic Review of the Epidemiological Evidence. *Environ Health Perspect, 125*(8), 087001. https://doi.org/10.1289/ehp577

Lachenmeier, D. W., Anderson, P., & Rehm, J. (2018). Heat-Not-Burn Tobacco Products: The Devil in Disguise or a Considerable Risk Reduction? *International Journal of Alcohol and Drug Research, 7*(2), 8-11. https://doi.org/10.7895/ijadr.250

Lakey, P. S., Berkemeier, T., Tong, H., Arangio, A. M., Lucas, K., Pöschl, U., & Shiraiwa, M. (2016). Chemical exposure-response relationship between air pollutants and reactive oxygen species in the human respiratory tract. *Sci Rep, 6*, 32916. https://doi.org/10.1038/srep32916

LaKind, J. S., McKenna, E. A., Hubner, R. P., & Tardiff, R. G. (1999). A review of the comparative mammalian toxicity of ethylene glycol and propylene glycol. *Crit Rev Toxicol, 29*(4), 331-365. https://doi.org/10.1080/10408449991349230

Laug, E. P., Calvery, H., Morris, H. J., & Woodard, G. (1939). The toxicology of some glycols and derivatives. *Journal of Industial Hygiene and Toxicology, 21*(6), 173-201.

Laugesen, M. (2008). Safety Report on the Ruyan® e-Cigarette and Inhaled Aerosol.

Lempert, L. K., Grana, R., & Glantz, S. A. (2016). The importance of product definitions in US e-cigarette laws and regulations. *Tob Control, 25*(e1), e44-51. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2014-051913

Lerner, C. A., Rutagarama, P., Ahmad, T., Sundar, I. K., Elder, A., & Rahman, I. (2016). Electronic cigarette aerosols and copper nanoparticles induce mitochondrial stress and promote DNA fragmentation in lung fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun, 477*(4), 620-625. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.06.109

Lerner, C. A., Sundar, I. K., Watson, R. M., Elder, A., Jones, R., Done, D., . . . Rahman, I. (2015). Environmental health hazards of e-cigarettes and their components: Oxidants and copper in e-cigarette aerosols. *Environ Pollut, 198*, 100-107. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.033

Lerner, C. A., Sundar, I. K., Yao, H., Gerloff, J., Ossip, D. J., McIntosh, S., . . . Rahman, I. (2015). Vapors produced by electronic cigarettes and e-juices with flavorings induce toxicity, oxidative stress, and inflammatory response in lung epithelial cells and in mouse lung. *PLoS One, 10*(2), e0116732. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116732

Lessmann, H., Schnuch, A., Geier, J., & Uter, W. (2005). Skin-sensitizing and irritant properties of propylene glycol. *Contact Dermatitis, 53*(5), 247-259. https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2005.00693.x

Leventhal, A. M., Madden, D. R., Peraza, N., Schiff, S. J., Lebovitz, L., Whitted, L., Barrington-Trimis, J., Mason, T. B., Anderson, M. K., & Tackett, A. P. (2021). Effect of exposure to e-cigarettes with salt vs free-base nicotine on the appeal and sensory experience of vaping: a randomized clinical trial. *JAMA Network Open, 4*(1), e2032757. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.32757

Li, N., Sioutas, C., Cho, A., Schmitz, D., Misra, C., Sempf, J., . . . Nel, A. (2003). Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect, 111*(4), 455-460. https://doi.org/10.1289/ehp.6000

Li, Q., Zhan, Y., Wang, L., Leischow, S. J., & Zeng, D. D. (2016). Analysis of symptoms and their potential associations with e-liquids' components: a social media study. *BMC Public Health, 16*(1), 674. https://doi.org/10.1186/s12889-016-3326-0

Lim, H. H., & Shin, H. S. (2017). Determination of volatile organic compounds including alcohols in refill fluids and cartridges of electronic cigarettes by headspace solid-phase micro

extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem, 409*(5), 1247-1256. https://doi.org/10.1007/s00216-016-0049-0

Liu, Q., Huang, C., & Chris Le, X. (2020). Arsenic species in electronic cigarettes: determination and potential health risk. *Journal of Environmental Sciences, 91*, 168-176. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.01.023

Loewenstein, D. K., & Middlekauff, H. R. (2017). Electronic cigarette device-related hazards: a call for immediate FDA regulation. *American Journal of Preventive Medicine, 52*(2), 229-231. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.amepre.2016.08.030

Logue, J. M., Sleiman, M., Montesinos, V. N., Russell, M. L., Litter, M. I., Benowitz, N. L., Gundel, L. A., & Destaillats, H. (2017). Emissions from electronic cigarettes: assessing vapers' intake of toxic compounds, secondhand exposures, and the associated health impacts. *Environmental Science & Technology, 51*(16), 9271-9279. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00710

Lopez, A. A., Hiler, M. M., Soule, E. K., Ramôa, C. P., Karaoghlanian, N. V., Lipato, T., . . . Eissenberg, T. (2016). Effects of Electronic Cigarette Liquid Nicotine Concentration on Plasma Nicotine and Puff Topography in Tobacco Cigarette Smokers: A Preliminary Report. *Nicotine Tob Res, 18*(5), 720-723. https://doi.org/10.1093/ntr/ntv182

Lykkesfeldt, J., Loft, S., & Poulsen, H. E. (1995). Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plasma by high-performance liquid chromatography with coulometric detection--are they reliable biomarkers of oxidative stress? *Anal Biochem, 229*(2), 329-335. https://doi.org/10.1006/abio.1995.1421

Majid, H., & Madl, P. (2011). Lung deposition predictions of airborne particles and the emergence of contemporary diseases Part-I. *theHealth, 2*, 51-56.

Margham, J., McAdam, K., Forster, M., Liu, C., Wright, C., Mariner, D., & Proctor, C. (2016). Chemical Composition of Aerosol from an E-Cigarette: A Quantitative Comparison with Cigarette Smoke. *Chemical Research in Toxicology, 29*(10), 1662-1678. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00188

Mikheev, V. B., Brinkman, M. C., Granville, C. A., Gordon, S. M., & Clark, P. I. (2016). Real-Time Measurement of Electronic Cigarette Aerosol Size Distribution and Metals Content Analysis. *Nicotine Tob Res, 18*(9), 1895-1902. https://doi.org/10.1093/ntr/ntw128

Minister of Justice. (2018). *Tobacco and Vaping Products Act. Canada Justice Laws.* https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/T-11.5/

Miyashita, L., Suri, R., Dearing, E., Mudway, I., Dove, R. E., Neill, D. R., . . . Grigg, J. (2018). E-cigarette vapour enhances pneumococcal adherence to airway epithelial cells. *Eur Respir J, 51*(2). https://doi.org/10.1183/13993003.01592-2017

Moe, B., Peng, H., Lu, X., Chen, B., Chen, L. W. L., Gabos, S., . . . Le, X. C. (2016). Comparative cytotoxicity of fourteen trivalent and pentavalent arsenic species determined using real-time cell sensing. *J Environ Sci (China), 49*, 113-124. https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.10.004

Moon, K., Guallar, E., & Navas-Acien, A. (2012). Arsenic exposure and cardiovascular disease: an updated systematic review. *Curr Atheroscler Rep, 14*(6), 542-555. https://doi.org/10.1007/s11883-012-0280-x

Moore, D., Aveyard, P., Connock, M., Wang, D., Fry-Smith, A., & Barton, P. (2009). Effectiveness and safety of nicotine replacement therapy assisted reduction to stop smoking: systematic review and meta-analysis. *BMJ, 338*, b1024. https://doi.org/10.1136/bmj.b1024

Morgan, D., Flake, G., Kirby, P., & Palmer, S. (2008). Respiratory toxicity of diacetyl in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci, 103*(1), 169-180. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn016

Morgan, D., Jokinen, M., Johnson, C., Price, H., Gwinn, W., Bousquet, R., & Flake, G. (2016). Chemical Reactivity and Respiratory Toxicity of the α-Diketone Flavoring Agents: 2,3-Butanedione, 2,3-Pentanedione, and 2,3-Hexanedione. *Toxicol Pathol, 44*(5), 763-783. https://doi.org/10.1177/0192623316638962

Morgan, D., Jokinen, M., Price, H., Gwinn, W., Palmer, S., & Flake, G. (2012). Bronchial and bronchiolar fibrosis in rats exposed to 2,3-pentanedione vapors: implications for bronchiolitis obliterans in humans. *Toxicol Pathol, 40*(3), 448-465. https://doi.org/10.1177/0192623311431946

Mudway, I. S., Fuller, G., Green, D., Dunster, C., & Kelly, F. J. (2009). *Quantifying the London specific component of PM 10 Oxidative activity* (KCLERG/ISM/OPMETHOD/DEFRA1). King's College London. . http://uk-air.defra.gov.uk/reports/cat09/1104261040_110330_Oxidative_Potential_report_Final.zip

Mueller, D., Triebel, S., Rudakovski, O., & Richling, E. (2013). Influence of triterpenoids present in apple peel on inflammatory gene expression associated with inflammatory bowel disease (IBD). *Food Chem, 139*(1-4), 339-346. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.101

Mulder, H. A., Stewart, J. B., Blue, I. P., Krakowiak, R. I., Patterson, J. L., Karin, K. N., Royals, J. M., DuPont, A. C., Forsythe, K. E., Poklis, J. L., Poklis, A., Butler, S. N., Turner, J. B. M., & Peace, M. R. (2020). Characterization of E-cigarette coil temperature and toxic metal analysis by infrared temperature sensing and scanning electron microscopy - energy-dispersive X-ray. *Inhal Toxicol, 32*(13-14), 447-455. https://doi.org/10.1080/08958378.2020.1840678

Muthumalage, T., Prinz, M., Ansah, K. O., Gerloff, J., Sundar, I. K., & Rahman, I. (2018). Inflammatory and Oxidative Responses Induced by Exposure to Commonly Used e-Cigarette Flavoring Chemicals and Flavored e-Liquids without Nicotine. *Frontiers in Physiology, 8*(1130). Original Research. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01130

Na, C.-J., Jo, S.-H., Kim, K.-H., Sohn, J.-R., & Son, Y.-S. (2019). The transfer characteristics of heavy metals in electronic cigarette liquid. *Environmental Research, 174*, 152-159. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.025

Neu, H. M., Lee, A., Brandis, J. E. P., Patel, V., Schneider, A., Kane, M. A., . . . Michel, S. L. J. (2020). Cigalike electronic nicotine delivery systems e-liquids contain variable levels of metals. *Scientific Reports, 10*(1), 11907. https://doi.org/10.1038/s41598-020-67789-7

Nicotine concentration in vaping products regulations: SOR/2021-123, (2021). https://gazette.gc.ca/rp-pr/p2/2021/2021-06-23/html/sor-dors123-eng.html

NIOSH. (2016a). *Criteria for a recommended standard: occupational exposure to diacetyl and 2,3-pentanedione. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH)*. Retrieved Oct. 5, 2021 from https://www.cdc.gov/niosh/docs/2016-111/?s_cid=3ni7d2DiacetylPressRel102016

NIOSH. (2016b). *Exposure to flavoring chemicals: How and where exposures may occur*. Retrieved Jun. 16, 2021 from https://www.cdc.gov/niosh/topics/flavorings/exposure.html

NIOSH. (2017). *Flavourings - Related lung diseases: Exposure control*. Retrieved Nov. 20, 2021 from https://www.cdc.gov/niosh/topics/flavorings/control.html

Nordberg, G. F., Fowler, B. A., & Nordberg, M. (2014). *Handbook on the toxicology of metals*. Academic press.

Nordberg, M., Nordberg, G., & Friberg, L. (2007). *Handbook on the toxicology of metals*. Academic Press.

Norton, K. J., June, K. M., & O'Connor, R. J. (2014). Initial puffing behaviors and subjective responses differ between an electronic nicotine delivery system and traditional cigarettes. *Tobacco Induced Diseases, 12*(October). journal article. https://doi.org/10.1186/1617-9625-12-17

Nygaard, U. C., Samuelsen, M., Aase, A., & Løvik, M. (2004). The capacity of particles to increase allergic sensitization is predicted by particle number and surface area, not by particle mass. *Toxicol Sci, 82*(2), 515-524. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh287

Occupational Safety and Health Administration (OSHA). (2019). *Permissible exposure limits - Annotated tables*. Retrieved Jan. 22, 2019 from https://www.osha.gov/annotated-pels/table-z-3

Ohashi, S. (2018). Development and validation of an ICP-MS method for simultaneous determination of selected metals in electronic cigarette aerosol. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research, 28*(1), 2-13. https://doi.org/https://doi.org/10.2478/cttr-2018-0002

Ohta, K., Uchiyama, S., Inaba, Y., Nakagome, H., & Kunugita, N. (2011). Determination of carbonyl compounds generated from the ellectronic cigarette using coupled silica cartridges impregnated with hydroquinone and 2,4-dinitrophenylhydrazine. *Bunseki Kagaku, 60*, 791-797. https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.60.791.

Olmedo, P., Goessler, W., Tanda, S., Grau-Perez, M., Jarmul, S., Aherrera, A., Chen, R., Hilpert, M., Cohen, J. E., Navas-Acien, A., & Rule, A. M. (2018). Metal Concentrations in e-Cigarette Liquid and Aerosol Samples: The Contribution of Metallic Coils. *Environmental Health Perspectives, 126*(2), 027010. https://doi.org/doi:10.1289/EHP2175

OSHA. (2007). *National Emphasis Program - Microwave pop corn processing plants. CPL 03-00-005*. Retrieved Jun. 16, 2021 from https://www.osha.gov/enforcement/directives/cpl-03-00-005

Palazzolo, D. L., Crow, A. P., Nelson, J. M., & Johnson, R. A. (2017). Trace metals derived from electronic cigarette (ECIG) generated aerosol: potential problem of ECIG devices that

contain nickel. *Frontiers in physiology, 7*, 663-663. https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00663

Papousek, R., Pataj, Z., Novakova, P., Bartak, P., & Lemr, K. (2014). Determination of acrylamide and acrolein in smoke from tobacco and E-cigarettes. *Chromatographia, 77 (17-18)*, 1145-1151. https://doi.org/10.1007/s10337-014-2729-2

Pappas, R. S., Gray, N., Halstead, M., Valentin-Blasini, L., & Watson, C. (2020). Toxic Metal-Containing Particles in Aerosols from Pod-Type Electronic Cigarettes. *Journal of Analytical Toxicology, 45*(4), 337-347. https://doi.org/10.1093/jat/bkaa088

Parliament of Canada. (2018). *Government Bill S5 - Royal Assent - An Act to Amend the Tobacco Act and the Non-smokers' Health Act and to make consequential amendments to other Acts. Senate of Canada.* http://www.parl.ca/DocumentViewer/en/42-1/bill/S-5/royal-assent

Pelfrêne, A., Cave, M. R., Wragg, J., & Douay, F. (2017). In Vitro Investigations of Human Bioaccessibility from Reference Materials Using Simulated Lung Fluids. *Int J Environ Res Public Health, 14*(2). https://doi.org/10.3390/ijerph14020112

Pellegrino, R. M., Tinghino, B., Mangiaracina, G., Marani, A., Vitali, M., Protano, C., . . . Cattaruzza, M. S. (2012). Electronic cigarettes: an evaluation of exposure to chemicals and fine particulate matter (PM). *Ann Ig, 24*(4), 279-288.

Peters, H. J. (2002). *Natural surface phenomena and the impact of corrosion inducing salts* The SSPC 2002 - Technical Presentations Arizona.

Phillips, B., Esposito, M., Verbeeck, J., Boué, S., Iskandar, A., Vuillaume, G., . . . Vanscheeuwijck, P. (2015). Toxicity of aerosols of nicotine and pyruvic acid (separate and combined) in Sprague-Dawley rats in a 28-day OECD 412 inhalation study and assessment of systems toxicology. *Inhal Toxicol, 27*(9), 405-431. https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1046000

Phillips, B., Titz, B., Kogel, U., Sharma, D., Leroy, P., Xiang, Y., . . . Vanscheeuwijck, P. (2017). Toxicity of the main electronic cigarette components, propylene glycol, glycerin, and nicotine, in Sprague-Dawley rats in a 90-day OECD inhalation study complemented by molecular endpoints. *Food Chem Toxicol, 109*(Pt 1), 315-332. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.09.001

Pietrogrande, M. C., Bertoli, I., Manarini, F., & Russo, M. (2019). Ascorbate assay as a measure of oxidative potential for ambient particles: Evidence for the importance of cell-free surrogate lung fluid composition. *Atmospheric Environment, 211*, 103-112. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.05.012

Pöschl, U., & Shiraiwa, M. (2015). Multiphase Chemistry at the Atmosphere–Biosphere Interface Influencing Climate and Public Health in the Anthropocene. *Chemical Reviews, 115*(10), 4440-4475. https://doi.org/10.1021/cr500487s

Poulsen, B. P., Merlin, C., & Schmidt, A. (2017). *Requirements for substances in e-liquids used in electronic cigarettes*. The Consumer Council at the Austrian Standards Institute. https://www.verbraucherrat.at/media/pages/news/archiv-2017-2018/studien-zu-chemischen-substanzen-in-liquids-und-daempfen-von-e-zigaretten/ad03ab87bd-1613593786/chemicalproducts-11b.pdf

Poulsen , P. B., & Fiala, F. (2020). *Follow-up study on fragrances/flavour substances in e-liquids used for e-cigarettes*. Federal ministry republic of Austria of social affairs, health, care and consumer protection. https://www.verbraucherrat.at/media/pages/news/e-cigarettes-review-of-risk-assessment-model/1b3ff4641c-1630410899/chemicalproducts-11e.pdf

Priemé, H., Loft, S., Nyyssönen, K., Salonen, J. T., & Poulsen, H. E. (1997). No effect of supplementation with vitamin E, ascorbic acid, or coenzyme Q10 on oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion in smokers. *Am J Clin Nutr, 65*(2), 503-507. https://doi.org/10.1093/ajcn/65.2.503

Protano, C., Avino, P., Manigrasso, M., Vivaldi, V., Perna, F., Valeriani, F., & Vitali, M. (2018). Environmental Electronic Vape Exposure from Four Different Generations of Electronic Cigarettes: Airborne Particulate Matter Levels. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 15*(10), 2172. https://www.mdpi.com/1660-4601/15/10/2172

Pryor, W. A. (1992). Biological effects of cigarette smoke, wood smoke, and the smoke from plastics: the use of electron spin resonance. *Free Radic Biol Med, 13*(6), 659-676. https://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90040-n

Pryor, W. A., Hales, B. J., Premovic, P. I., & Church, D. F. (1983). The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science, 220*(4595), 425-427. https://doi.org/10.1126/science.6301009

Qu, Y., Kim, K. H., & Szulejko, J. E. (2018). The effect of flavor content in e-liquids on e-cigarette emissions of carbonyl compounds. *Environ Res, 166*, 324-333. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.06.013

Rahman, I., & Adcock, I. M. (2006). Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur Respir J, 28*(1), 219-242. https://doi.org/10.1183/09031936.06.00053805

Ramôa, C. P., Hiler, M. M., Spindle, T. R., Lopez, A. A., Karaoghlanian, N., Lipato, T., . . . Eissenberg, T. (2016). Electronic cigarette nicotine delivery can exceed that of combustible cigarettes: a preliminary report. *Tob Control, 25*(e1), e6-9. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2015-052447

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free radical biology & medicine, 49*(11), 1603-1616. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006

Rigotti, N. A., Pipe, A. L., Benowitz, N. L., Arteaga, C., Garza, D., & Tonstad, S. (2010). Efficacy and safety of varenicline for smoking cessation in patients with cardiovascular disease: a randomized trial. *Circulation, 121*(2), 221-229. https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.869008

RIVM. (2015). *CLH report for nicotine. Proposal for harmonised classification and labelling. Substance name: nicotine.* (614-001-00-4). RIVM, Bureau REACH. https://echa.europa.eu/documents/10162/56df129c-42d3-4533-a828-e5d26a58bc63

Rodrigo, G., Jaccard, G., Tafin Djoko, D., Korneliou, A., Esposito, M., & Belushkin, M. (2021). Cancer potencies and margin of exposure used for comparative risk assessment of heated tobacco products and electronic cigarettes aerosols with cigarette smoke. *Arch Toxicol, 95*(1), 283-298. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02924-x

Royal college of physicians. (2016). *Nicotine without smoke: Tobacco harm reduction.* Royal college of physicians. L. RCP. https://www.rcplondon.ac.uk/projects/outputs/nicotine-without-smoke-tobacco-harm-reduction

Saffari, A., Daher, N., Ruprecht, A., De Marco, C., Pozzi, P., Boffi, R., Hamad, S. H., Shafer, M. M., Schauer, J. J., Westerdahl, D., & Sioutas, C. (2014). Particulate metals and organic compounds from electronic and tobacco-containing cigarettes: comparison of emission rates and secondhand exposure. *Environ Sci Process Impacts, 16*(10), 2259-2267. https://doi.org/10.1039/c4em00415a

Sassano, M. F., Davis, E. S., Keating, J. E., Zorn, B. T., Kochar, T. K., Wolfgang, M. C., . . . Tarran, R. (2018). Evaluation of e-liquid toxicity using an open-source high-throughput screening assay. *PLoS Biol, 16*(3), e2003904. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003904

Scheffler, S., Dieken, H., Krischenowski, O., & Aufderheide, M. (2015). Cytotoxic Evaluation of e-Liquid Aerosol using Different Lung-Derived Cell Models. *Int J Environ Res Public Health, 12*(10), 12466-12474. https://doi.org/10.3390/ijerph121012466

Schins, R. P., Lightbody, J. H., Borm, P. J., Shi, T., Donaldson, K., & Stone, V. (2004). Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. *Toxicol Appl Pharmacol, 195*(1), 1-11. https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.002

Schmid, O., Möller, W., Semmler-Behnke, M., A. Ferron, G., Karg, E., Lipka, J., . . . Stoeger, T. (2009). Dosimetry and toxicology of inhaled ultrafine particles. *Biomarkers, 14*(sup1), 67-73. https://doi.org/10.1080/13547500902965617

Schober, W., Szendrei, K., Matzen, W., Osiander-Fuchs, H., Heitmann, D., Schettgen, T., . . . Fromme, H. (2014). Use of electronic cigarettes (e-cigarettes) impairs indoor air quality and increases FeNO levels of e-cigarette consumers. *Int J Hyg Environ Health, 217*(6), 628-637. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.11.003

Schripp, T., Markewitz, D., Uhde, E., & Salthammer, T. (2013). Does e-cigarette consumption cause passive vaping? *Indoor Air, 23*(1), 25-31. https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2012.00792.x

Semmler, M., Seitz, J., Erbe, F., Mayer, P., Heyder, J., Oberdörster, G., & Kreyling, W. G. (2004). Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs. *Inhal Toxicol, 16*(6-7), 453-459. https://doi.org/10.1080/08958370490439650

Shahpoury, P., Harner, T., Lammel, G., Lelieveld, S., Tong, H., & Wilson, J. (2019). Development of an antioxidant assay to study oxidative potential of airborne particulate matter. *Atmos. Meas. Tech., 12*(12), 6529-6539. https://doi.org/10.5194/amt-12-6529-2019

Shao, Xu, B., Liang, J., Xie, X. S., Zhu, Y., & Feldman, J. L. (2013). Nicotine delivery to rats via lung alveolar region-targeted aerosol technology produces blood pharmacokinetics resembling human smoking. *Nicotine Tob Res, 15*(7), 1248-1258. https://doi.org/10.1093/ntr/nts261

Shields, P. G., Berman, M., Brasky, T. M., Freudenheim, J. L., Mathe, E., McElroy, J. P., . . . Wewers, M. D. (2017). A Review of Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes in the

Context of Smoking: A Focus on Inflammation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 26*(8), 1175-1191. https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-17-0358

Simonsen, L. (2014). Steam Engine. Retrieved Jul.20, 2020 from https://www.steam-engine.org/

Singh Sankhla, M., Sharma, K., & Kumar, R. (2017). Heavy Metal Causing Neurotoxicity in Human Health. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, Vol. 6*, 7721-7726. https://doi.org/10.15680/IJIRSET.2017.0605054

Sleiman, M., Logue, J. M., Montesinos, V. N., Russell, M. L., Litter, M. I., Gundel, L. A., & Destaillats, H. (2016). Emissions from electronic cigarettes: key parameters affecting the release of harmful chemicals. *Environ Sci Technol, 50*(17), 9644-9651. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01741

Smyth, H. F. J. S., J.; Fischer, L. (1941). The single dose toxicity of some glycols and derivatives. *Journal of Industrial Hygiene and Toxicology, 23*, 259-268.

Son, Y., Mishin, V., Laskin, J. D., Mainelis, G., Wackowski, O. A., Delnevo, C., . . . Meng, Q. (2019). Hydroxyl Radicals in E-Cigarette Vapor and E-Vapor Oxidative Potentials under Different Vaping Patterns. *Chem Res Toxicol, 32*(6), 1087-1095. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00400

Son, Y., Mishin, V., Welsh, W., Lu, S. E., Laskin, J. D., Kipen, H., & Meng, Q. (2015). A Novel High-Throughput Approach to Measure Hydroxyl Radicals Induced by Airborne Particulate Matter. *Int J Environ Res Public Health, 12*(11), 13678-13695. https://doi.org/10.3390/ijerph121113678

Soule, E. K., Maloney, S. F., Spindle, T. R., Rudy, A. K., Hiler, M. M., & Cobb, C. O. (2017). Electronic cigarette use and indoor air quality in a natural setting. *Tob Control, 26*(1), 109-112. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2015-052772

Spindle, T. R., Breland, A. B., Karaoghlanian, N. V., Shihadeh, A. L., & Eissenberg, T. (2015). Preliminary results of an examination of electronic cigarette user puff topography: the effect of a mouthpiece-based topography measurement device on plasma nicotine and subjective effects. *Nicotine Tob Res, 17*(2), 142-149. https://doi.org/10.1093/ntr/ntu186

Stephens, W. (2017). Comparing the cancer potencies of emissions from vapourised nicotine products including e-cigarettes with those of tobacco smoke. *Tobacco Control, 27*, tobaccocontrol-2017. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2017-053808

St. Charles, F. K., Moldoveanu, S., & Scott, W. (2016). A robust method for evaluating the pH of e-liquids. 70th Tobacco science research conference, CORESTA. https://www.coresta.org/abstracts/robust-method-evaluating-ph-e-liquids-30365.html

Stopford, W., Turner, J., Cappellini, D., & Brock, T. (2003). Bioaccessibility testing of cobalt compounds. *Journal of Environmental Monitoring, 5*(4), 675-680. 10.1039/B302257A. https://doi.org/10.1039/B302257A

Strasser, A., Souprountchouk, V., Kaufmann, A., Blazekovic, S., Leone, F., Benowitz, N., & Schnoll, R. (2016). Nicotine Replacement, Topography, and Smoking Phenotypes of E-cigarettes. *Tobacco Regulatory Science, 2*, 352-362. https://doi.org/10.18001/TRS.2.4.7

Sussan, T. E., Gajghate, S., Thimmulappa, R. K., Ma, J., Kim, J. H., Sudini, K., . . . Biswal, S. (2015). Exposure to electronic cigarettes impairs pulmonary anti-bacterial and anti-viral

defenses in a mouse model. *PLoS One, 10*(2), e0116861. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116861

Suwazono, Y., Sand, S., Vahter, M., Filipsson, A. F., Skerfving, S., Lidfeldt, J., & Akesson, A. (2006). Benchmark dose for cadmium-induced renal effects in humans. *Environ Health Perspect, 114*(7), 1072-1076. https://doi.org/10.1289/ehp.9028

Tai, A., Sawano, T., & Yazama, F. (2011). Antioxidant Properties of Ethyl Vanillin in Vitro and in Vivo. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 75*(12), 2346-2350. https://doi.org/10.1271/bbb.110524

Talih, S., Balhas, Z., Eissenberg, T., Salman, R., Karaoghlanian, N., El Hellani, A., . . . Shihadeh, A. (2015). Effects of user puff topography, device voltage, and liquid nicotine concentration on electronic cigarette nicotine yield: measurements and model predictions. *Nicotine Tob Res, 17*(2), 150-157. https://doi.org/10.1093/ntr/ntu174

Tansel, B. (2017). From electronic consumer products to e-wastes: Global outlook, waste quantities, recycling challenges. *Environ Int, 98*, 35-45. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.002

Taylor, M., Carr, T., Oke, O., Jaunky, T., Breheny, D., Lowe, F., & Gaça, M. (2016). E-cigarette aerosols induce lower oxidative stress in vitro when compared to tobacco smoke. *Toxicology Mechanisms and Methods, 26*(6), 465-476. https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1222473

Thyssen, J. P., Linneberg, A., Menné, T., & Johansen, J. D. (2007). The epidemiology of contact allergy in the general population - prevalence and main findings. *Contact Dermatitis, 57*(5), 287-299. https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2007.01220.x

Tierney, P. A., Karpinski, C. D., Brown, J. E., Luo, W., & Pankow, J. F. (2016). Flavour chemicals in electronic cigarette fluids. *Tob Control, 25*(e1), e10-15. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2014-052175

Tourtellotte, W. W., Reinglass, J. L., & Newkirk, T. A. (1972). Cerebral dehydration action of glycerol. I. Historical aspects with emphasis on the toxicity and intravenous administration. *Clin Pharmacol Ther, 13*(2), 159-171. https://doi.org/10.1002/cpt1972132159

U.S.EPA. (2000a). *Acetaldehyde: Hazard Summary.* Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/acetaldehyde.pdf

U.S.EPA. (2000b). *Chromium compounds*. Retrieved Dec. 10, 2020 from https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/chromium-compounds.pdf

Uchiyama, S., Inaba, Y., & Kunugita, N. (2010). Determination of acrolein and other carbonyls in cigarette smoke using coupled silica cartridges impregnated with hydroquinone and 2,4-dinitrophenylhydrazine. *J Chromatogr A, 1217*(26), 4383-4388. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.04.056

Uchiyama, S., Ohta, K., Inaba, Y., & Kunugita, N. (2013). Determination of carbonyl compounds generated from the E-cigarette using coupled silica cartridges impregnated with hydroquinone and 2,4-dinitrophenylhydrazine, followed by high-performance liquid chromatography. *Anal Sci, 29*(12), 1219-1222. https://doi.org/10.2116/analsci.29.1219

Unfried, K., Albrecht, C., Klotz, L.-O., Von Mikecz, A., Grether-Beck, S., & Schins, R. P. F. (2007). Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms. *Nanotoxicology, 1*(1), 52-71. https://doi.org/10.1080/00222930701314932

Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, K. (2009). Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *International journal of environmental research and public health, 6*(2), 445-462. https://doi.org/10.3390/ijerph6020445

van der Vliet, A., O'Neill, C. A., Cross, C. E., Koostra, J. M., Volz, W. G., Halliwell, B., & Louie, S. (1999). Determination of low-molecular-mass antioxidant concentrations in human respiratory tract lining fluids. *Am J Physiol, 276*(2), L289-296. https://doi.org/10.1152/ajplung.1999.276.2.L289

Vapo Distri. (2019). *De quoi est composée une cigarette électronique (E-CIG)?* Retrieved Sept. 25, 2020 from https://www.vapodistri.com/fr/debutants

Vas, C. A., Porter, A., & McAdam, K. (2019). Acetoin is a precursor to diacetyl in e-cigarette liquids. *Food and Chemical Toxicology, 133*, 110727. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110727

Vautrot, P. (2016). *Dangers from the electronical cigarette : the e-liquids toxicity* [PhD's thesis, Université de Lorraine]. Univ-lorraine-Theses-ex-pharma-ul. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733281

Warshaw, E. M., Botto, N. C., Maibach, H. I., Fowler, J. F., Jr., Rietschel, R. L., Zug, K. A., . . . Mathias, C. G. (2009). Positive patch-test reactions to propylene glycol: a retrospective cross-sectional analysis from the North American Contact Dermatitis Group, 1996 to 2006. *Dermatitis, 20*(1), 14-20.

Weatherby, J. H., & Haag, H. B. (1938). Toxicity of propylene glycol. *Journal of the American Pharmacists Association, 27*(6), 466-471.

Weichenthal, S. (2012). Selected physiological effects of ultrafine particles in acute cardiovascular morbidity. *Environ Res, 115*, 26-36. https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.03.001

Werley, M. S., Kirkpatrick, D. J., Oldham, M. J., Jerome, A. M., Langston, T. B., Lilly, P. D., . . . McKinney, W. J. (2016). Toxicological assessment of a prototype e-cigaret device and three flavor formulations: a 90-day inhalation study in rats. *Inhalation Toxicology, 28*(1), 22-38. https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1130758

Williams, M., Bozhilov, K., Ghai, S., & Talbot, P. (2017). Elements including metals in the atomizer and aerosol of disposable electronic cigarettes and electronic hookahs. *PLOS ONE, 12*(4), e0175430. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175430

Williams, M., Bozhilov, K. N., & Talbot, P. (2019). Analysis of the elements and metals in multiple generations of electronic cigarette atomizers. *Environmental Research, 175*, 156-166. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.05.014

Williams, M., To, A., Bozhilov, K., & Talbot, P. (2015). Strategies to Reduce Tin and Other Metals in Electronic Cigarette Aerosol. *PLoS One, 10*(9), e0138933. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138933

Williams, M., Villarreal, A., Bozhilov, K., Lin, S., & Talbot, P. (2013). Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and aerosol. *PLOS ONE, 8*(3), e57987. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057987

World Health Organization. (2021). *Tobacco*. Retrieved Aug. 7, 2021 from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco

World Health Organization. (1991). Nickel (Environmental health criteria 108). Retrieved Oct, 10 2022 from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37667/924157108X-eng.pdf?sequence=1

World Health Organization (2000) Regional office for Europe. Air quality guidelines for Europe, 2nd ed. https://apps.who.int/iris/handle/10665/107335

Yardim, Y., & En, Z. (2011). Voltammetric behavior of indole-3-acetic acid and kinetin at pencil-lead graphite electrode and their simultaneous determination in the presence of anionic surfactant. *Turkish Journal of Chemistry, 35*. https://doi.org/10.3906/kim-1011-805

Ying, Z., Kampfrath, T., Thurston, G., Farrar, B., Lippmann, M., Wang, A., . . . Rajagopalan, S. (2009). Ambient particulates alter vascular function through induction of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicol Sci, 111*(1), 80-88. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp004

Zare, S., Nemati, M., & Zheng, Y. (2018). A systematic review of consumer preference for e-cigarette attributes: Flavor, nicotine strength, and type. *PLoS One, 13*(3), e0194145. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194145

Zervas, E., Matsouki, N., Kyriakopoulos, G., Poulopoulos, S., Ioannides, T., & Katsaounou, P. (2020). Transfer of metals in the liquids of electronic cigarettes. *Inhalation Toxicology, 32*(6), 240-248. https://doi.org/10.1080/08958378.2020.1776801

Zhao, D., Aravindakshan, A., Hilpert, M., Olmedo, P., Rule, A. M., Navas-Acien, A., & Aherrera, A. (2020). Metal/Metalloid levels in electronic cigarette liquids, aerosols, and human biosamples: a systematic review. *Environ Health Perspect, 128*(3), 36001. https://doi.org/10.1289/ehp5686

Zhao, D., Navas-Acien, A., Ilievski, V., Slavkovich, V., Olmedo, P., Adria-Mora, B., Domingo-Relloso, A., Aherrera, A., Kleiman, N. J., Rule, A. M., & Hilpert, M. (2019). Metal concentrations in electronic cigarette aerosol: effect of open-system and closed-system devices and power settings. *Environmental Research, 174*, 125-134. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.003

Zhao, J., Nelson, J., Dada, O., Pyrgiotakis, G., Kavouras, I. G., & Demokritou, P. (2018). Assessing electronic cigarette emissions: linking physico-chemical properties to product brand, e-liquid flavoring additives, operational voltage and user puffing patterns. *Inhalation Toxicology, 30*(2), 78-88. https://doi.org/10.1080/08958378.2018.1450462

Zhu, S.-H., Sun, J. Y., Bonnevie, E., Cummins, S. E., Gamst, A., Yin, L., & Lee, M. (2014). Four hundred and sixty brands of e-cigarettes and counting: implications for product regulation. *Tobacco Control, 23*(suppl 3), iii3-iii9. https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2014-051670

Zielinski, H., Mudway, I., BéruBé, K. A., Murphy, S. A., Richards, R. J., & Kelly, F. J. (1999). Modeling the interactions of particulates with epithelial lining fluid antioxidants. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology, 277 4*, L719-L726.

ANNEXE A: DÉTERMINATION DU POTENTIAL OXYDATIF DES E-LIQUIDES DE LA CIGARETTE ÉLECTRONIQUE PAR LA MÉTHODE DE DÉPLETION D'ACIDE ASCORBIQUE

1. OBJECTIF

Ce protocole vise à quantifier le **potentiel oxydatif (PO) des métaux lixiviés dans les e-liquides**, lequel sera déterminée à travers du taux de déplétion de l'acide ascorbique (AA), qui est l'antioxydant le plus abondant dans les fluides pulmonaires (Gosselin & Zagury, 2020; Pietrogrande et al., 2019), par HPLC-MS. Cette dernière étape démontrera la capacité de production d'espèces réactives de l'oxygène (ÉRO) (Godri et al., 2010; Gosselin & Zagury, 2020; Son et al., 2019) dans les poumons par les métaux relargués dans les e-liquides. Il est important de mentionner que les ÉRO sont associés à différents types de maladies pulmonaires obstructives chroniques (Rahman & Adcock, 2006), à l'asthme (Delfino et al., 2013; Fitzpatrick et al., 2009) et à l'athérosclérose (Ying et al., 2009).

2. RAPPEL : PARAMÈTRES DE VAPOTAGE

Tableau nº 1: Topographie de l'inhalation chez les vapoteurs

Durée de chaque inhalation	4 s
Intervalle de temps entre chaque inhalation	30 s
Nombre de bouffées par jour (*)	500
Volume total d'e-liquide consommé par jour (**) (En condition de mèche humide)	3.3 mL
Intervalle de température de vaporisation	200-250 °C
Temps de vapotage par jour	30 min
Temps de vie utile de l'élément chauffant	7-10 jours

(*) La valeur du numéro de bouffées par jour a été choisie en considérant que le consommateur est un vapoteur expérimenté (RIVM, 2015). Néanmoins, il est possible qu'il y ait des vapoteurs avec un numéro de bouffées major à 500 par jour (Poulsen et al., 2017).

(**) Le volume total d'e-liquide consommé par jour est en fonction du numéro de bouffées par jour (RIVM, 2015).

3. ESSAI N^{O} 1 : QUANTIFICATION DU POTENTIEL OXYDATIF PAR HPLC-MS

Cet essai vise à calculer le PO à travers du taux de déplétion de l'AA produit par les métaux lixiviés dans les e-liquides des échantillons de relargage, lesquels sont générés après la mise en contact avec les éléments chauffants sous un intervalle de température de 200-250 °C pendant 1 h chaque jour pour 3 jours consécutifs.

Le test de PO sera développé avec un nombre limité d'échantillons, qui seront choisis selon les résultats obtenus dans le test d'estimation de l'exposition aux métaux. Les échantillons de relargage qui possèdent des valeurs élevées de métaux proche ou au-dessus des limites permissibles (p.ex., DJÉ $_{M\ aérosol}$ ou CMS$_{M\ e\text{-}liquide}$), c'est-à-dire qui contiennent une concentration remarquable de métaux lixiviés, seront inclus dans ce test. Il est prévu un maximum de 4 échantillons où un volume de 0.333 mL (l'équivalent de 50 bouffées, Son et al. (2019)) de chaque échantillon sera pris et mis en contact avec un fluide synthétique de revêtement épithélial simulé (FSRÉS). Le FSRÉS sera constitué avec la solution Gamble (SG), qui représente la région extracellulaire du poumon profond (alvéoles) avec un pH neutre (7.4), et l'AA, l'antioxydant le plus abondant dans les fluides pulmonaires (Gosselin & Zagury, 2020; Shahpoury et al., 2019). Ce système sera incubé pendant 4 h à 37 °C (Miyashita et al., 2018).

À la fin du temps d'incubation, un volume de 50 µL d'échantillon incubé sera pris et acidifié avec 50 µL de l'acide métaphosphorique (AMP) glacé, pour stabiliser le restant d'AA, puis 400 µL d'eau de qualité HPLC seront ajoutés afin d'obtenir une concentration finale de 5 % d'AMP (Iriyama et al., 1984; Mudway et al., 2009). Il est important que les bouteilles des échantillons possèdent un bouchon en plastique hermétique pour éviter le passage d'oxygène qui peut oxyder l'AA restant (Buettner & Jurkiewicz, 1996). Finalement, la solution finale sera gardée dans le congélateur à -20 °C (Buettner & Jurkiewicz, 1996; Karlsen et al., 2007; Lykkesfeldt et al., 1995; Mudway et al., 2009) jusqu'à la réalisation de l'analyse par HPLC-MS. Parmi les échantillons se trouveront également un blanc, un contrôle positif (MP, standard SRM-1648), un contrôle négatif (MP, M120, carbone noir de 50 nm) (Zielinski et al., 1999).

Il faut souligner que la quantification des taux de déplétion de l'AA sera faite par HPLC-MS au laboratoire du Centre régional de spectrométrie de masse de l'Université de Montréal où la concentration résiduelle d'AA des solutions finales sera déterminée dans une courbe d'étalonnage

d'AA (0-25 µM) où les solutions de la courbe d'étalonnage seront préparées à 5 % AMP (Kelly et al., 2011).

- **MATÉRIAUX.**

Produits chimiques (grade ACS ou supérieur)

- Eau désionisée
- AA en poudre
- Réactifs pour préparer la SG (voir tableau #2. Section 3.2)
- Acide nitrique à 68 % (HNO_3)
- Acide métaphosphorique
- Méthanol.
- MP standards : SRM-1648 et M120
- Glace sèche (pour garder les échantillons finals à 4 °C lors de la livraison au laboratoire de l'Université de Montréal)

E-liquides

- 4 échantillons à choisir selon les résultats de l'estimation de l'exposition ($DTEJ_{Maérosol}$ et $C_{Me\text{-}liquide}$)

Matériaux et équipements

- Balance analytique
- Spatule métallique
- Nacelles de pesée en plastique
- Incubateur ajustable à 37 ± 0.5 °C (Fisher Isotemp)
- Thermomètre
- Agitateur orbital
- Agitateur magnétique et bande
- pH-mètre, précis à ± 0.05 unité de pH
- Pipettes automatiques (1-10 mL et 10-1000 µL), RAININ; modèle E4XLS avec embouts jetables
- Seringue Luer-Lock
- Filtres 0.45 µm pour seringues Luer-Lock
- Ballons volumétriques (100 mL et 250 mL)
- Tubes à centrifuger en plastique (15 et 50 mL)
- Centrifugeuse (Heraeus megafuge 8) et rotor correspondant (Highconic)
- Cuves de centrifugeuse
- Chronomètre
- Contenant isotherme en mousse (boîte de styromousse)

- **MATÉRIAUX D'USAGE GÉNÉRAL**

  - Gants en nitrile
  - Papier absorbant (KimWipes)
  - Détergent sans phosphate (Sparkleen)

3.1. *NETTOYAGE*

Afin d'éviter la contamination des échantillons, il est important de nettoyer les contenants et la verrerie au début de chaque expérience, en utilisant de l'eau chaude et du détergent sans phosphate, suivi du rinçage des matériaux avec de l'eau désionisée (trois fois).

Dans un bain de trempage contenant une solution 10 % (v/v) HNO_3, laisser tremper les items déjà nettoyés pour une durée minimale de 8 h. Il est recommandé de laisser tous les items dans le bain pour une nuitée. Finalement, rincer les items trois fois à l'eau désionisée.

3.2. Préparation de la solution Gamble

Tableau nº 2 : Composition chimique du FSRÉS (Colombo et al., 2008)

Réactif (g)	Pour 1 L de solution Sol. Gamble (pH = 7.4)	Pour 500 mL de solution Sol. Gamble (pH = 7.4)	Pour 250 mL de solution Sol. Gamble (pH = 7.4)
Chlorure de magnésium hexahydraté ($MgCl_2.6H_2O$)	0.203	0.102	0.051
Chlorure de sodium (NaCl)	6.019	3.010	1.505
Chlorure de potassium (KCl)	0.298	0.149	0.075
Hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4)	0.126	0.063	0.032
Sulfate de sodium (Na_2SO_4)	0.063	0.032	0.016
Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2.2H_2O$)	0.368	0.184	0.092
Acétate de sodium ($C_2H_3O_2Na$)	0.574	0.287	0.144
Hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)	2.604	1.302	0.651
Citrate de sodium dihydraté ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$)	0.097	0.049	0.024

<u>Étape 1</u> : Préparer 1 L de SG en utilisant un ballon volumétrique de 1 L et consulter le tableau 2, afin que les quantités de réactifs ajoutées coïncident avec le volume final de la solution. *Il est conseillé de conserver environ 1 L d'eau désionisée dans une bouteille fermée à l'intérieur de l'incubateur en marche, afin d'assurer la préparation rapide de SG, en plus que celle-ci atteigne 37 °C le plus rapidement possible.* Il est important que la SG soit fraîche, c'est-à-dire qu'elle doit être préparée le même jour d'analyse. Peser et ajouter le premier réactif en s'assurant qu'il est dissous dans l'eau désionisée à l'intérieur de la fiole (utiliser un agitateur magnétique), puis répéter le processus en ajoutant les autres produits chimiques en suivant l'ordre, l'un après l'autre, jusqu'à ce que la dissolution soit complète.

<u>Étape 2</u> : Mettre au volume la fiole avec de l'eau désionisée et garder le ballon volumétrique dans un bain d'eau statique ou dans un incubateur fonctionnant à 37 °C, au moins 1 h avant de démarrer l'expérience. Vérifier que la solution ait atteint la température de 37 °C et que la valeur de pH est égale à 7.4 avant de commencer l'expérience.

3.3. Préparation de la solution d'AA à 200 µM

<u>Note nº 1</u> : *S'il est nécessaire de congeler la solution d'AA, il est recommandé d'ajouter du méthanol lors de la préparation (20:80 méthanol : eau). La présence du méthanol permettra une décongélation rapide (~1 min) de la solution concentrée d'AA à température ambiante et aidera à prévenir l'oxydation de l'AA pendant le processus de décongélation de solution avant de débuter le test (Shahpoury et al., 2019).*

<u>Étape 1</u> : Peser 0.0176 g d'AA dans une nacelle de pesées. Effectuer le transfert dans une flaque volumétrique de 50 mL et mettre au niveau avec de l'eau désionisée. Bien agiter la solution. La concentration finale de la solution d'AA sera égale à 2 mM.

<u>Étape 2</u> : La solution de 2 mM sera diluée à 200 µM. Prendre 5 mL de la solution 2 mM et ajouter ce volume dans une autre fiole de 50 mL, puis mettre au niveau avec de l'eau désionisée. Finalement, transférer la solution d'AA à 200 µM dans un tube de centrifugation en polypropylène (PP) préalablement identifié et conserver la solution dans le congélateur à -20 °C jusqu'à la réalisation de l'analyse.

3.4. Extraction de métaux lixiviés dans les échantillons d'e-liquides et des standards de MP dans la SG

A. Standards de contrôle positif et négatif dans la SG : *afin d'assurer la standardisation intra essai entre les expériences, deux types de MP ont été choisis comme échantillons de contrôle. Le SRM-1648 est une particule d'origine urbaine et possède un haut potentiel oxydatif (contrôle positif) et le M-120 (particules de charbon noir de 50 nm) avec un PO faible (contrôle négatif).*

Étape 1 : Peser 40 mg des standards de MP SRM-1648 et M-120 dans les tubes de centrifugation en téflon séparément et noter les poids.

Étape 2 : Transférer 40 mL de la SG qui se trouve déjà à 37 °C à l'aide d'une pipette automatique dans chaque récipient à centrifugeuse. Vérifier que le pH de SG est égal à 7.4; s'il est nécessaire d'ajuster le pH des échantillons, utiliser des gouttes de HCL 1M (Kelly et al., 2011; Pelfrêne et al., 2017) avant de débuter l'incubation. Placer et fixer horizontalement les tubes contenant les échantillons de SRM-1648 et M-120 respectivement dans l'agitateur orbital, qui a été précédemment mis à l'intérieur de l'incubateur. Visser fermement les bouchons à l'avance pour éviter toute évaporation ou fuite, et exécuter le test en réglant la vitesse d'agitation à 100 rpm et la température à 37 °C pour une période de 2 h (Zielinski et al., 1999). Il est également fortement suggéré d'utiliser un chronomètre dès le début de l'expérience.

Étape 3 : Lors du déroulement du test d'incubation des MP, identifier deux tubes de centrifugation en PP de 50 mL avec ses bouchons en PP avec les noms des standards, un tube pour chaque standard de MP.

Étape 4 : Après 2 h, arrêter l'incubateur et mettre les cuves dans le rotor de la centrifugeuse; elles doivent être placées symétriquement l'une en face de l'autre. Fixer le rotor avec sa vis et vérifier si le rotor est bloqué avant la centrifugation en essayant de le soulever (il ne doit pas bouger vers le haut). Régler la vitesse de la centrifugeuse à 8 600 tr/min (10 000 x g, ne jamais dépasser cette valeur avec un rotor Highconic). La durée de la centrifugation sera de 10 min 40 s, sous une accélération et décélération progressive. Ces paramètres sont déjà enregistrés sous le programme n° 1. Finalement, fermer le couvercle de la centrifugeuse et appuyer sur le bouton de démarrage.

Étape 5 : Dès que la centrifugation se termine, prélever le surnageant d'un des échantillons, à l'aide d'une seringue Luer-lock connecté à un filtre 0.45 µm, et filtrer le contenu du tube. Retirer le filtre

et transférer le filtrat dans un des tubes de centrifugation correctement identifiés (étape 3), puis ajouter 1 mL de HNO_3 à la solution du contrôle positif. Répéter cette étape avec l'échantillon restant. Il devrait y avoir deux tubes en PP contenant les solutions filtrées de MP, un pour le contrôle positif (SRM-1648) et l'autre pour le contrôle négatif (M-120).

Étape 6 : Laisser refroidir les échantillons à température pièce, puis les conserver à 4 °C. Les échantillons resteront en bon état jusqu'à un temps maximal de quatre semaines.

3.5. Échantillons de relargage de métaux dans la SG

Étape 1 : À l'aide d'une pipette automatique, prendre 0.333 mL (l'équivalent de 50 bouffées) du liquide restant d'échantillon de relargage dans un erlenmeyer de 500 mL correctement identifié, lequel a été conservé dans l'incubateur auparavant, et noter le poids.

Note nº 2 : À cause de la haute viscosité des e-liquides, il est conseillé de convertir la valeur de 0.333 mL en g, afin d'éviter des pertes d'échantillons dans les parois des pipettes automatiques. Ceci est possible en multipliant 0.333 mL par la densité de l'e-liquide.

Note nº 3 : Zielinski et al. (1999) mettent en contact 1 mg d'échantillon avec 1 mL de FSRÉS, donc en considérant la densité de l'e-liquide, le volume de SG à utiliser pourrait varier légèrement selon la densité de l'échantillon choisi.

Étape 2 : Dans le même erlenmeyer de l'étape 1, transférer 382.95 mL de la SG qui se trouve déjà à 37 °C (ce volume de SG, 382.95mL est une donnée de référence et correspond à un échantillon avec une densité d'e-liquide de 1.15 $g.mL^{-1}$). Vérifiez que le pH de SG est égal à 7.4; s'il est nécessaire de régler le pH d'échantillon, utiliser des gouttes de HCL 1M (Kelly et al., 2011; Pelfrêne et al., 2017) avant de débuter l'incubation. Lors du déroulement du test, ajouter 1 erlenmeyer supplémentaire avec de la SG, mais sans échantillon d'e-liquide qui servira comme blanc d'analyse.

Étape 3 : Placer et fixer horizontalement le bécher contenant l'échantillon dans l'agitateur orbital qui se trouve à l'intérieur de l'incubateur. Visser fermement les bouchons à l'avance pour éviter toute évaporation ou fuite, et exécuter le test en réglant la vitesse d'agitation à 100 rpm et la température à 37 °C pour une période de 2 h.

Étape 4 : Après 2 h, laisser refroidir le tube avec l'échantillon à température pièce, puis conserver à 4 °C. Le test devrait être réalisé dans les quatre prochaines semaines.

4. TEST DE POTENTIEL OXYDATIF PAR HPLC-MS

Les incubations seront effectuées en considérant une concentration finale égale à 50 µg/mL pour les échantillons dans la SG (p.ex., échantillons de relargage de métaux, contrôles positif et négatif) et ayant une valeur de concentration de 200 µM pour la solution d'AA, puisque celle-ci reflète la concentration de cet antioxydant dans le poumon (Kelly et al., 2011; Zielinski et al., 1999)

Par ailleurs, en ayant les concentrations des échantillons à 50 µg/mL, ceci facilite d'exprimer les valeurs de PO par unité de masse (Mudway et al., 2009), ainsi que la comparaison de résultats parmi les échantillons. Ceci permettra de savoir quel est l'e-liquide qui génère le plus de PO par unité de masse (PO/µg). Il est important de mentionner que les échantillons de cet essai seront analysés par duplicata.

Étape 1 : Démarrer et régler l'incubateur à 37 °C au moins 4 h avant de débuter l'expérience.

Étape 2 : En utilisant des plaques multi-puits correctement identifiées, ajouter dans chaque puits 1 mL de la solution d'AA à 200 µM. Dans chaque puits qui contient l'AA à 200 µM doit être ajouté un volume de 50 µL d'échantillon. À la fin, il devrait avoir deux puits de chaque échantillon (e-liquides, contrôle positif, négatif, blanc et solution enrichie), tous mélangés avec l'AA à 200 µM, puisque les analyses seront faites en duplicata. La concentration d'échantillon dans la solution finale sera égale à 50 µg/mL.

Étape 3 : Placer les plaques dans l'agitateur orbital (vitesse d'agitation 100 rpm) qui se trouve dans l'incubateur; s'assurer également que tous les appareils de l'agitateur orbital sont bien serrés et vérifier que l'incubateur est réglé à 37 °C. Finalement, démarrer le test pour une période de 4 h, en utilisant un chronomètre dès le début de l'expérience.

Étape 4 : Lors du déroulement du test d'incubation, prendre des tubes en téflon de 2 mL en les identifiant correctement, afin d'avoir un tube pour chaque échantillon.

Étape 5 : Après 4 h, arrêter l'incubateur et ôter les plaques multi-puits. Puis, à l'aide d'une pipette, prendre 100 µL de chaque échantillon et verser dans les tubes préalablement identifiés. Ensuite, ajouter 100 µL d'AMP glacé et 800 µL d'eau désionisée pour atteindre une concentration finale de 5 % d'AMP dans une solution de 1 mL. Refermer le tube et bien l'agiter manuellement. Conserver les échantillons à -20 °C, jusqu'à la réalisation de l'analyse au laboratoire du Centre régional de spectrométrie de masse de l'Université de Montréal.

La concentration résiduelle d'AA de tous les échantillons sera déterminée par HPLC-MS dans une courbe d'étalonnage d'AA (0-25µM) préparée à 5 % d'AMP.

Note nº 5 *:* Lors de la journée de livraison des échantillons, il faut que les échantillons soient mis dans une boîte de styromousse avec de la glace sèche pour atteindre une température de 4°C (Karlsen et al., 2007), laquelle évitera la dégradation des échantillons jusqu'à leur arrivée au laboratoire de l'Université de Montréal où ils seront mis dans le congélateur à -20 °C jusqu'à la date de réalisation de l'analyse. De préférence, il est conseillé d'analyser les échantillons la même date d'arrivée au laboratoire.

5. CALCULS

Le PO sera exprimé par le ratio entre le pourcentage d'AA consommé et la concentration finale d'e-liquide dans le FSRÉS (50 µg/mL). Au début, le pourcentage d'AA consommé sera quantifié à partir de la concentration restant d'AA dans l'échantillon en relation à la concentration du blanc après la période d'incubation (formule nº 1) :

$$\%AA_consommé = \frac{C_{échantillon_i}(\mu M)}{C_{Blanc}(\mu M) après\ 4h} * 100 \qquad (1)$$

Où :

$\%AA_{consommé}$: Pourcentage d'AA consommé

$C_{échantillon_i}$ (µM) : Concentration finale d'AA d'échantillon « i »

C_{Blanc} (µM) : Concentration d'AA du blanc après du temps d'incubation

Ce pourcentage de déplétion d'AA sera normalisé par la concentration finale d'e-liquide incubé dans la SG (50 $\mu g.mL^{-1}$) afin d'exprimer les valeurs de PO par unité de masse ($PO_{AA}.\mu g^{-1}$) (formule nº 2). Une valeur élevée de PO indique que l'e-liquide possède un important pouvoir oxydant :

$$\frac{PO_{AA}}{\mu g} = \frac{\%\ AA_consommé}{50\ \mu g.mL^{-1}} \qquad (2)$$

Où :

$PO_{AA}/\mu g$: PO par unité de masse

% $AA_{consommé}$: Pourcentage d'AA consommé

50 µg.mL^{-1}: Concentration finale des e-liquides dans la SG

Également, il est possible de connaître quelle est la concentration d'AA consommé par unité de temps (µM.m^{-1}) avec l'équation n° 3 :

$$\Delta = \frac{C_{blanc}(\mu M) - C_{échantillon_i}(\mu M)}{temps\ d'incubation(\text{min})} \qquad (3)$$

Où :

C_{blanc} : Concentration initial d'AA du blanc (µM)

$C_{échantillon_i}$: Concentration finale d'AA d'échantillon « i » (µM)

Temps d'incubation : 4 h ou 240 min

Δ : Consommation d'AA lors du temps d'incubation (µM.m^{-1})

ANNEXE B: SUPPLEMENTARY MATERIAL.

Table S.1 Detailed information about study e-liquid samples.

E-liquid	Abbreviated name	Nicotine content	pH	Density (g/mL) At 25°C	Flavoring presence (Yes, Blend or No)	E-liquid type	PG[a] : VG[b] ratio
Berries	BR	10 mg/mL	4.7	1.17	Blend	Nicotine salt	50:50
		40 mg/mL	5.1	1.16			
Blond Tobacco	BT	10 mg/mL	4.7	1.16	Yes	Nicotine salt	
		40 mg/mL	5.5	1.17			
Hit Nicotine	HN	40 mg/mL	5.3	1.13	No	Nicotine salt	
Light Tobacco	LT	3 mg/mL	8.0	1.15	Blend	Free-base	
		18 mg/mL	8.6	1.14			
Melon	ML	0 mg/mL	3.0	1.18	Blend	--	30:70
Nude Base	NB	3 mg/mL	9.0	1.14	No	Free-base	50:50
		18 mg/mL	9.5	1.16			
Nude Salt	NS	3 mg/mL	5.6	1.15	No	Nicotine salt	
		40 mg/mL	5.8	1.15			
Papaya	PY	3 mg/mL	4.4	1.15	Blend	Free-base	
		18 mg/mL	8.0	1.12			
Peach	PCH	9 mg/mL	5.2	1.20	Blend	Nicotine salt	35.3:64.7
Strawberry	STW	6 mg/mL	6.5	1.23	Blend	Free-base	20:80
Tobacco	TB	5%	5.8	1.17	Yes	Nicotine salt	50:50

[a]PG = Propylene glycol.

[b]VG = Vegetable glycerin.

Table S.2 Metal concentrations (mean ± standard deviation, n= 2) in 17 e-liquids from dispenser bottles.

Free-base					
E-liquid	**Abbreviated name**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Papaya 3 mg/mL	PY 3 mg/mL	145 ± 11.2	< DL[a]	< DL	< DL
Papaya 18 mg/mL	PY 18 mg/mL	166 ± 21.2	< DL	< DL	< DL
Nude Base 3 mg/mL	NB 3 mg/mL	201 ± 8.3	11.0 ± 9.4	3.6 ±0.3	< DL
Nude Base 18 mg/mL	NB 18 mg/mL	201 ± 7.9	< DL	3.9 ± 1.2	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	LT 3 mg/mL	171± 0.00	21.1 ± 6.2	5.4 ± 0.6	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	LT 18 mg/mL	150 ± 27.2	< DL	15.5 ± 1.5	< DL
Melon 0 mg/mL	ML 0 mg/mL	143 ± 10.7	< DL	12.6 ± 0.2	< DL
Strawberry 6 mg/mL	STW 6 mg/mL	190 ± 57.7	< DL	< DL	< DL
Nicotine salts					
E-liquid	**Abbreviated name**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Berries 10 mg/mL	BR 10 mg/mL	160 ± 0.3	< DL	3.9 ±0.02	15.1 ± 0.4
Berries 40 mg/mL	BR 40 mg/mL	146 ± 2.2	< DL	< DL	23.3 ± 0.4
Nude Salt 3 mg/mL	NS 3 mg/mL	130 ± 12.0	71.5 ± 2.3	< DL	< DL
Nude Salt 40 mg/mL	NS 40 mg/mL	104 ± 3.9	24.1 ± 4.5	< DL	< DL
Hit Nicotine 40 mg/mL	HN 40 mg/mL	386 ± 15.6	< DL	< DL	< DL
Tobacco 5%	TB 5%	179 ± 4.8	76.0 ± 18.5	4.7 ± 0.4	< DL
Peach 9 mg/mL	PCH 9 mg/mL	124 ± 9.8	< DL	< DL	< DL
Blond Tobacco 10 mg/mL	BT 10 mg/mL	77.1 ± 9.0	< DL	< DL	< DL
Blond Tobacco 40 mg/mL	BT 40 mg/mL	126 ± 20.3	< DL	< DL	< DL

[a] < DL = Values below detection limits.

Table S.3 Metal concentrations (mean ± standard deviation, n= 2) in e-liquids after contact with coils.

Free-base + Nichrome 80 coil					Nicotine salts + Nichrome 80 coil				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	169 ± 5.1	9.0 ± 6.6	55.7 ± 4.7	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	112 ± 2.8	37.8 ± 12.0	< DL	< DL
Nude Base 3 mg/mL	134 ± 2.4	< DL	*5.0* [a]	24.5 ± 6.3	Nude Salt 40 mg/mL	235 ± 5.0	553 ± 1.7	< DL	< DL
Nude Base 18 mg/mL	134 ± 2.1	< DL	4.8 ± 0.4	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	385 ± 44.2	45.3 ± 11.9	27.5 ± 16.3	< DL
Papaya 3 mg/mL	169 ± 21.1	< DL	< DL	< DL	Berries 10 mg/mL	204 ± 35.1	220 ± 29.3	6.9 ± 7.2	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	137 ± 3.5	20.1 ± 8.4	2.8 ± 1.8	< DL	Berries 40 mg/mL	322 ± 30.1	616 ± 64.3	8.5 ± 5.7	16.9 ± 2.0
Light Tobacco 18 mg/mL	186 ± 5.2	52.9 ± 31.4	19.9 ± 2.4	< DL	Tobacco 5%	150 ± 23.1	125 ± 0.4	7.0 ± 2.9	< DL
Free-base + Juul coil					**Nicotine salts + Juul coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	168 ± 16.9	< DL	29.6 ± 6.7	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	120 ± 0.9	64.3 ± 29.1	*15.4*	< DL
Nude Base 3 mg/mL	133 ± 7.5	< DL	15.5 ± 7.9	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	144 ± 5.4	55.2 ± 18.6	< DL	< DL
Nude Base 18 mg/mL	139 ± 6.1	< DL	16.2 ± 9.4	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	670 ± 87.0	17.1 ± 3.3	2.2 ± 0.6	< DL
Papaya 3 mg/mL	160 ± 8.1	27.8 ± 14.0	< DL	< DL	Berries 10 mg/mL	201 ± 29.1	244 ± 45.1	5.3 ± 1.8	7.3 ± 0.8
Light Tobacco 3 mg/mL	167 ± 4.8	126 ± 5.4	4.4 ± 6.1	< DL	Berries 40 mg/mL	233 ± 2.7	356 ± 34.7	29.4 ± 30.2	22.0 ± 2.7
Light Tobacco 18 mg/mL	202 ± 7.8	70.9 ± 0.7	18.6 ± 2.2	< DL	Tobacco 5%	225 ± 34.2	151 ± 3.6	10.9 ± 3.7	< DL
Free-base + Aspire BVC coil					**Nicotine salts + Aspire BVC coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	179 ± 20.2	1.22E+04 ± 2.8E+02	19.5 ± 0.4	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	115 ± 3.2	311 ± 19.0	< DL	< DL
Nude Base 3 mg/mL	133 ± 16.3	< DL	3.2 ± 1.6	26.5 ± 0.5	Nude Salt 40 mg/mL	145 ± 3.2	1.64E+03 ± 7.0E+00	*4.2*	< DL
Nude Base 18 mg/mL	140 ± 1.9	< DL	6.3 ± 5.9	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	864 ± 116	3.39E+03 ± 4.1E+01	2.0 ± 2.2	< DL
Papaya 3 mg/mL	187 ± 12.6	424 ± 18.4	0.5 ± 0.3	< DL	Berries 10 mg/mL	236 ± 36.1	2.18E+03 ± 3.4E+02	9.9 ± 1.5	9.7 ± 2.0

Light Tobacco 3 mg/mL	124 ± 1.0	377 ± 3.0	5.5 ± 1.9	< DL	Berries 40 mg/mL	233 ± 30.3	1.49E+03 ± 1.7E+03	12.6 ± 0.8	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	160 ± 20.1	364 ± 74.3	28.4 ± 10.9	< DL					
Free-base + Kanthal A-1 coil					**Nicotine salts + Kanthal A-1 coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	152 ± 14.8	< DL	15.2 ± 0.3	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	106 ± 5.1	12.5 ± 7.6	< DL	< DL
Nude Base 3 mg/mL	143 ± 15.0	< DL	7.7 ± 6.9	31.6 ± 0.7	Nude Salt 40 mg/mL	254 ± 9.7	517 ± 6.3	< DL	< DL
Nude Base 18 mg/mL	142 ± 16.5	< DL	4.7 ± 1.5	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	500 ± 46.2	23.3 ± 20.7	7.7 ± 4.6	< DL
Papaya 3 mg/mL	144 ± 9.8	< DL	3.3 ± 0.0	< DL	Berries 10 mg/mL	165 ± 21.6	*56.7*	9.4 ± 7.3	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	124 ± 6.0	*75.4*	5.8 ± 2.8	< DL	Berries 40 mg/mL	172 ± 4.4	11.4 ± 7.3	3.8 ± 1.4	17.7 ± 1.8
Light Tobacco 18 mg/mL	161 ± 3.1	< DL	14.6 ± 0.7	< DL					
Free-base + Stainless steel 317L coil					**Nicotine salts + Stainless steel 317L coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	161 ± 5.8	< DL	16.2 ± 0.8	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	112 ± 4.5	57.3 ± 25.3	*5.2*	< DL
Nude Base 3 mg/mL	136 ± 0.4	< DL	< DL	24 ± 4.1	Nude Salt 40 mg/mL	119 ± 5.6	35.8 ± 1.8	< DL	< DL
Nude Base 18 mg/mL	133 ± 11.3	< DL	11.1 ± 13.5	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	314 ± 23.5	7.8 ± 1.8	< DL	< DL
Papaya 3 mg/mL	158 ± 3.1	< DL	4.3 ± 1.8	< DL	Berries 10 mg/mL	153 ± 5.4	< DL	7.1 ± 7.6	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	136 ± 2.9	< DL	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	186 ± 18.4	7.5 ± 1.3	8.2 ± 3.3	12.9 ± 2.9
Light Tobacco 18 mg/mL	172 ± 20.2	< DL	29 ± 7.7	< DL					

[a]Values in italics indicate that during duplicate measurements, only one value was measured by ICP-MS while the other was below DL.

Table S.4 Released metal concentrations (mean ± standard deviation, n= 2) by each coil (after deducting metal levels from procedure blanks).

Free-base + Nichrome 80 coil					**Nicotine salts + Nichrome 80 coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	33.2 ± 5.1	32.5 ± 6.6	42.8 ± 4.7	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	< DL	16.3 ± 12.0	*7.1*[a]	< DL
Nude Base 3 mg/mL	11.2 ± 2.4	9.4 ± 6.4	*4.3*	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	119 ± 5.0	514 ± 1.7	1.7 ± 0.1	< DL
Nude Base 18 mg/mL	< DL	< DL	< DL	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	*43.1*	45.9 ± 11.9	46.1 ± 16.3	< DL
Papaya 3 mg/mL	*25.7*	31.1 ± 24.6	< DL	< DL	Berries 10 mg/mL	60.9 ± 35.1	217 ± 29.3	*5.9*	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	< DL	49.7 ± 8.4	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	163 ± 30.1	589 ± 64.3	< DL	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	37.9 ± 5.2	84.9 ± 31.4	4.5 ± 2.4	< DL	Tobacco 5%	< DL	16.6 ± 0.4	< DL	< DL
Free-base + Juul coil					**Nicotine salts + Juul coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	25.6 ± 16.9	19.9 ± 9.5	16.0 ± 6.7	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	6.1 ± 0.9	41.8 ± 29.1	16.2 ± 22.0	< DL
Nude Base 3 mg/mL	9.8 ± 7.5	10.8 ± 2.1	14.9 ± 7.9	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	30.5 ± 5.4	*29.7*	*4.5*	< DL
Nude Base 18 mg/mL	< DL	< DL	*10.1*	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	287 ± 87.0	17.7 ± 3.3	21.3 ± 0.6	< DL
Papaya 3 mg/mL	< DL	61.4 ± 14.0	< DL	< DL	Berries 10 mg/mL	69.4 ± 29.1	241 ± 45.1	< DL	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	19.0 ± 4.8	157 ± 5.4	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	85.8 ± 2.7	331 ± 34.7	*28.1*	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	64.3 ± 7.8	101 ± 0.7	4.2 ± 2.2	< DL	Tobacco 5%	< DL	40.6 ± 3.6	*4.5*	< DL
Free-base + Aspire BVC coil					**Nicotine salts + Aspire BVC coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	53.0 ± 20.2	1.23E+04 ± 2.8E+02	7.4 ± 0.4	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	< DL	288 ± 19.0	*16.9*	< DL
Nude Base 3 mg/mL	18.3 ± 16.3	19.6 ± 0.2	*3.8*	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	24.1 ± 3.2	1.59E+03 ± 7.0E+00	*18.5*	< DL
Nude Base 18 mg/mL	< DL	*18.0*	< DL	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	480 ± 116	3.39E+03 ± 4.1E+01	21.1 ± 2.2	< DL
Papaya 3 mg/mL	49.4 ± 12.6	453 ± 18.4	< DL	< DL	Berries 10 mg/mL	82.5 ± 36.1	2.17E+03 ± 3.4E+02	*4.3*	< DL

Light Tobacco 3 mg/mL	< DL	407 ± 3.0	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	54.5 ± 30.3	1.46E+03 ± 1.7E+03	< DL	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	*31.3*	395 ± 74.3	13.5 ± 10.9	< DL					
Free-base + Kanthal A-1 coil					**Nicotine salts + Kanthal A-1 coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	17.3 ± 14.8	11.0 ± 2.8	2.3 ± 0.3	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	< DL	< DL	< DL	< DL
Nude Base 3 mg/mL	17.5 ± 15.0	16.4 ± 0.6	*12.0*	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	138 ± 9.7	478 ± 6.3	7.9 ± 2.8	< DL
Nude Base 18 mg/mL	< DL	< DL	< DL	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	126 ± 46.2	23.8 ± 20.7	26.4 ± 4.6	< DL
Papaya 3 mg/mL	13.1 ± 9.8	< DL	0.7 ± 0.0	< DL	Berries 10 mg/mL	27.3 ± 21.6	*53.3*	*8.6*	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	< DL	66.6 ± 56.8	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	< DL	< DL	< DL	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	25.2 ± 3.1	5.6 ± 2.2	< DL	< DL					
Free-base + Stainless steel 317L coil					**Nicotine salts + Stainless steel 317L coil**				
E-liquid	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**	**E-liquid**	**Cr (µg/kg)**	**Ni (µg/kg)**	**Pb (µg/kg)**	**Cd (µg/kg)**
Melon 0 mg/mL	18.5 ± 5.8	< DL	2.5 ± 0.8	< DL	Nude Salt 3 mg/mL	5.5 ± 2.0	36.1 ± 25.3	11.6 ± 12.7	< DL
Nude Base 3 mg/mL	18.9 ± 0.4	< DL	< DL	< DL	Nude Salt 40 mg/mL	< DL	< DL	2.9 ± 1.7	< DL
Nude Base 18 mg/mL	< DL	< DL	*8.0*	< DL	Hit Nicotine 40 mg/mL	< DL	8.4 ± 1.8	*8.7*	< DL
Papaya 3 mg/mL	24.5 ± 3.1	*12.1*	1.6 ± 1.8	< DL	Berries 10 mg/mL	24.7 ± 5.4	< DL	*6.9*	< DL
Light Tobacco 3 mg/mL	< DL	< DL	< DL	< DL	Berries 40 mg/mL	27.1 ± 18.4	< DL	< DL	< DL
Light Tobacco 18 mg/mL	23.0 ± 20.2	9.7 ± 1.1	13.5 ± 7.7	< DL					

[a] Values in italics indicate that during duplicate measurements, only one value was measured by ICP-MS while the other was below DL

Table S.5 Inhalation limit values (ILVs) (mg/m^3)

Metal	MRL[a]	PEL[b]	REL[c]	TLV[d]
Ni	2E-04 (Int)[e]	1	1.5E-02	1.5
	9E-05 (Chr)[f]			
Cd	1E-05 (Chr)	N/A	N/A	2E-03
Cr (III)	1E-04 (Int)	5E-01	5E-01	3E-03
Pb	N/A	5E-02	5E-02	5E-02

[a]MRL: Minimal risk levels according to Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR.

[b]PEL: Permissible exposure limits according to Occupational Safety and Health Administration, OSHA.

[c]REL: Recommended exposure limits according to National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH.

[d]TLV: Threshold limit values according to the American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH.

[e]Int = Intermediate-duration exposure (15-364 days).
[f]Chr = Chronic-duration inhalation exposure (≥ 1 year).

Table S.6 [a] $C_{M\ e\text{-}liquid}$ values (mean ± standard deviation, n= 2) in e-liquids from dispenser bottles.

Free-base				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Papaya 3 mg/mL	1.7E-04 ± 1.3E-05	N/A[b]	N/A	N/A
Papaya 18 mg/mL	1.9E-04 ± 2.4E-05	N/A	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	2.3E-04 ± 9.5E-06	1.3E-05 ± 1.1E-05	4.1E-06 ± 3.3E-07	N/A
Nude Base 18 mg/mL	2.3E-04 ± 9.2E-06	N/A	4.5E-06 ± 1.3E-06	N/A
Light Tobacco 3 mg/mL	2.0E-04 ± 3.4E-09	2.4E-05 ± 7.1E-06	6.2E-06 ± 6.4E-07	N/A
Light Tobacco 18 mg/mL	1.7E-04 ± 3.1E-05	N/A	1.8E-05 ± 1.7E-06	N/A
Strawberry 6 mg/L	2.3E-04 ± 7.1E-05	N/A	N/A	N/A
Melon 0 mg/mL	1.7E-04 ± 1.3E-05	N/A	1.5E-05 ± 2.8E-07	N/A
Nicotine salts				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Berries 10 mg/mL	1.9E-04 ± 3.0E-07	N/A	4.5E-06 ± 2.2E-08	1.8E-05 ± 4.7E-07
Berries 40 mg/mL	1.7E-04 ± 2.6E-06	N/A	N/A	2.7E-05 ± 4.3E-07
Nude Salt 3 mg/mL	1.5E-04 ± 1.4E-05	8.2E-05 ± 2.7E-06	N/A	N/A
Nude Salt 40 mg/mL	1.2E-04 ± 4.4E-06	2.8E-05 ± 5.2E-06	N/A	N/A
Hit Nicotine 40 mg/mL	4.4E-04 ± 1.8E-05	N/A	N/A	N/A
Tobacco 5%	2.1E-04 ± 5.7E-06	8.9E-05 ± 2.2E-05	5.5E-06 ± 5.2E-07	N/A
Peach 9 mg/mL	1.5E-04 ± 1.2E-05	N/A	N/A	N/A
Blond Tobacco 10 mg/mL	8.9E-05 ± 1.0E-05	N/A	N/A	N/A
Blond Tobacco 40 mg/mL	1.5E-04 ± 2.4E-05	N/A	N/A	N/A

[a]Table S.6 presents data from Table S.2 expressed in mg/mL using Eq. (2) to be compared with SC values (Table 2).
[b] N/A = Not applicable. N/A was used for values that were < DL (in mg/mL).

Table S.7[a] $C_{M\ e\text{-}liquid}$ values (mean ± standard deviation, n= 2) in e-liquids after contact with coils.

Free-base + Nichrome 80 coil					Nicotine salts + Nichrome 80 coil				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb(mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**	**E-liquid**	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Melon 0 mg/mL	2.0E-04 ± 6.0E-06	1.1E-05 ± 7.7E-06	6.6E-05 ± 5.5E-06	N/A	Nude Salt 3 mg/mL	1.3E-04 ± 3.3E-06	4.3E-05 ± 1.4E-05	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	1.5E-04 ± 2.8E-06	N/A	N/A	2.8E-05 ± 7.2E-06	Nude Salt 40 mg/mL	2.7E-04 ± 5.7E-06	6.4E-04 ± 2.0E-06	N/A	N/A
Nude Base 18 mg/mL	1.5E-04 ± 2.5E-06	N/A	5.6E-06 ± 4.7E-07	N/A	Hit Nicotine 40 mg/mL	4.3E-04 ± 5.0E-05	5.1E-05 ± 1.3E-05	3.1E-05 ± 1.8E-05	N/A
Papaya 3 mg/mL	1.9E-04 ± 2.4E-05	N/A	N/A	N/A	Berries 10 mg/mL	2.4E-04 ± 4.1E-05	2.6E-04 ± 3.4E-05	8.1E-06 ± 8.5E-06	N/A
Light Tobacco 3 mg/mL	1.6E-04 ± 4.0E-06	2.3E-05 ± 9.7E-06	3.2E-06 ± 2.0E-06	N/A	Berries 40 mg/mL	3.7E-04 ± 3.5E-05	**7.1E-04 ± 7.4E-05[b]**	9.8E-06 ± 6.6E-06	2.0E-05 ± 2.3E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	2.1E-04 ± 5.9E-06	6.0E-05 ± 3.6E-05	2.3E-05 ± 2.7E-06	N/A	Tobacco 5%	1.8E-04 ± 2.7E-05	1.5E-04 ± 5.2E-07	8.3E-06 ± 3.4E-06	N/A
Free-base + Juul coil					**Nicotine salts + Juul coil**				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**	**E-liquid**	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Melon 0 mg/mL	2.0E-04 ± 2.0E-05	N/A	3.5E-05 ± 7.9E-06	N/A	Nude Salt 3 mg/mL	1.4E-04 ± 1.0E-06	7.4E-05 ± 3.3E-05	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	1.5E-04 ± 8.5E-06	N/A	1.8E-05 ± 9.0E-06	N/A	Nude Salt 40 mg/mL	1.7E-04 ± 6.2E-06	6.4E-05 ± 2.1E-05	N/A	N/A
Nude Base 18 mg/mL	1.6E-04 ± 7.0E-06	N/A	1.9E-05 ± 1.1E-05	N/A	Hit Nicotine 40 mg/mL	**7.5E-04 ± 9.8E-05**	1.9E-05 ± 3.7E-06	2.5E-06 ± 7.3E-07	N/A
Papaya 3 mg/mL	1.8E-04 ± 9.3E-06	3.2E-05 ± 1.6E-05	N/A	N/A	Berries 10 mg/mL	2.4E-04 ± 3.4E-05	2.9E-04 ± 5.3E-05	6.2E-06 ± 2.1E-06	8.5E-06 ± 9.4E-07
Light Tobacco 3 mg/mL	1.9E-04 ± 5.5E-06	1.5E-04 ± 6.2E-06	5.1E-06 ± 7.0E-06	N/A	Berries 40 mg/mL	2.7E-04 ± 3.2E-06	4.1E-04 ± 4.0E-05	3.4E-05 ± 3.5E-05	2.5E-05 ± 3.2E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	2.3E-04 ± 8.9E-06	8.1E-05 ± 7.9E-07	2.1E-05 ± 2.5E-06	N/A	Tobacco 5%	2.6E-04 ± 4.0E-05	1.8E-04 ± 4.2E-06	1.3E-05 ± 4.4E-06	N/A
Free-base + Aspire BVC coil					**Nicotine salts + Aspire BVC coil**				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**	**E-liquid**	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Melon 0 mg/mL	2.1E-04 ± 2.4E-05	**1.4E-02 ± 3.3E-04**	2.3E-05 ± 4.7E-07	N/A	Nude Salt 3 mg/mL	1.3E-04 ± 3.7E-06	3.6E-04 ± 2.2E-05	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	1.5E-04 ± 1.9E-05	N/A	3.6E-06 ± 1.9E-06	3.0E-05 ± 5.9E-07	Nude Salt 40 mg/mL	1.7E-04 ± 3.6E-06	**1.9E-03 ± 8.1E-06**	N/A	N/A
Nude Base 18 mg/mL	1.6E-04 ± 2.1E-06	N/A	7.2E-06 ± 6.8E-06	N/A	Hit Nicotine 40 mg/mL	**9.7E-04 ± 1.3E-04**	**3.8E-03 ± 4.6E-05**	2.2E-06 ± 2.5E-06	N/A
Papaya 3 mg/mL	2.1E-04 ± 1.4E-05	4.9E-04 ± 2.1E-05	5.4E-07 ± 3.4E-07	N/A	Berries 10 mg/mL	2.8E-04 ± 4.2E-05	**2.6E-03 ± 4.0E-04**	1.2E-05 ± 1.7E-06	1.1E-05 ± 2.3E-06
Light Tobacco	1.4E-04 ±	4.3E-04 ±	6.4E-06 ±						

3 mg/mL	1.1E-06	3.4E-06	2.1E-06	N/A	Berries 40 mg/mL	2.7E-04 ± 3.5E-05	**1.7E-03 ± 1.9E-03**	1.5E-05 ± 8.9E-07	N/A
Light Tobacco 18 mg/mL	1.8E-04 ± 2.3E-05	4.2E-04 ± 8.5E-05	3.2E-05 ± 1.2E-05	N/A					
Free-base + Kanthal A-1 coil					**Nicotine salts + Kanthal A-1 coil**				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**	**E-liquid**	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Melon 0 mg/mL	1.8E-04 ± 1.7E-05	N/A	1.8E-05 ± 3.7E-07	N/A	Nude Salt 3 mg/mL	1.2E-04 ± 5.8E-06	1.4E-05 ± 8.7E-06	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	1.6E-04 ± 1.7E-05	N/A	8.8E-06 ± 7.9E-06	3.6E-05 ± 7.8E-07	Nude Salt 40 mg/mL	2.9E-04 ± 1.1E-05	6.0E-04 ± 7.2E-06	N/A	N/A
Nude Base 18 mg/mL	1.6E-04 ± 1.9E-05	N/A	5.4E-06 ± 1.7E-06	N/A	Hit Nicotine 40 mg/mL	5.6E-04 ± 5.2E-05	2.6E-05 ± 2.3E-05	8.7E-06 ± 5.2E-06	N/A
Papaya 3 mg/mL	1.6E-04 ± 1.1E-05	N/A	3.8E-06 ± 4.9E-08	N/A	Berries 10 mg/mL	1.9E-04 ± 2.5E-05	N/A	1.1E-05 ± 8.5E-06	N/A
Light Tobacco 3 mg/mL	1.4E-04 ± 6.9E-06	N/A	6.7E-06 ± 3.2E-06	N/A	Berries 40 mg/mL	2.0E-04 ± 5.1E-06	1.3E-05 ± 8.5E-06	4.4E-06 ± 1.6E-06	2.0E-05 ± 2.0E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	1.8E-04 ± 3.6E-06	N/A	1.7E-05 ± 8.2E-07	N/A					
Free-base + Stainless steel 317L coil					**Nicotine salts + Stainless steel 317L coil**				
E-liquid	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**	**E-liquid**	**Cr (mg/mL)**	**Ni (mg/mL)**	**Pb (mg/mL)**	**Cd (mg/mL)**
Melon 0 mg/mL	1.9E-04 ± 6.8E-06	N/A	1.9E-05 ± 9.1E-07	N/A	Nude Salt 3 mg/mL	1.3E-04 ± 5.2E-06	6.6E-05 ± 2.9E-05	N/A	N/A
Nude Base 3 mg/mL	1.5E-04 ± 4.2E-07	N/A	N/A	2.7E-05 ± 4.7E-06	Nude Salt 40 mg/mL	1.4E-04 ± 6.5E-06	4.1E-05 ± 2.0E-06	N/A	N/A
Nude Base 18 mg/mL	1.5E-04 ± 1.3E-05	N/A	1.3E-05 ± 1.6E-05	N/A	Hit Nicotine 40 mg/mL	3.5E-04 ± 2.7E-05	8.8E-06 ± 2.1E-06	N/A	N/A
Papaya 3 mg/mL	1.8E-04 ± 3.6E-06	N/A	4.9E-06 ± 2.0E-06	N/A	Berries 10 mg/mL	1.8E-04 ± 6.4E-06	N/A	8.3E-06 ± 8.9E-06	N/A
Light Tobacco 3 mg/mL	1.6E-04 ± 3.3E-06	N/A	N/A	N/A	Berries 40 mg/mL	2.2E-04 ± 2.1E-05	8.7E-06 ± 1.5E-06	9.4E-06 ± 3.8E-06	1.5E-05 ± 3.3E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	2.0E-04 ± 2.3E-05	N/A	3.3E-05 ± 8.8E-06	N/A					

[a]Table S.7 presents data from Table S.3 converted in mg/mL using Eq. (2) to be compared with SC values (Table 2).
[b]Values in bold exceed the SC values calculated using MRLs.

Table S.8[a] Theoretical daily doses of metal in EC aerosol (TDD $_{aerosol}$) (mean ± standard deviation, n= 2)

Free-base + Nichrome 80 coil				Nicotine salts + Nichrome 80 coil			
E-liquid	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**	**E-liquid**	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**
Melon 0 mg/mL	9.9E-05 ± 3.0E-06	1.1E-05 ± 7.7E-06	8.7E-05 ± 7.4E-06	Nude Salt 3 mg/mL	6.4E-05 ± 1.6E-06	4.3E-05 ± 1.4E-05	N/A
Nude Base 3 mg/mL	7.6E-05 ± 1.4E-06	N/A	N/A	Nude Salt 40 mg/mL	1.4E-04 ± 2.9E-06	6.4E-04 ± 2.0E-06	N/A
Nude Base 18 mg/mL	7.7E-05 ± 1.2E-06	N/A	7.5E-06 ± 6.2E-07	Hit Nicotine 40 mg/mL	2.2E-04 ± 2.5E-05	5.1E-05 ± 1.3E-05	4.1E-05 ± 2.5E-05
Papaya 3 mg/mL	9.7E-05 ± 1.2E-05	N/A	N/A	Berries 10 mg/mL	1.2E-04 ± 2.1E-05	2.6E-04 ± 3.4E-05	1.1E-05 ± 1.1E-05
Light Tobacco 3 mg/mL	7.9E-05 ± 2.0E-06	2.3E-05 ± 9.7E-06	4.2E-06 ± 2.7E-06	Berries 40 mg/mL	1.9E-04 ± 1.7E-05	7.1E-04 ± 7.4E-05	1.3E-05 ± 8.7E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	1.1E-04 ± 2.9E-06	6.0E-05 ± 3.6E-05	3.0E-05 ± 3.6E-06	Tobacco 5%	8.8E-05 ± 1.4E-05	1.5E-04 ± 5.2E-07	1.1E-05 ± 4.6E-06
Free-base + Juul coil				**Nicotine salts + Juul coil**			
E-liquid	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**	**E-liquid**	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**
Melon 0 mg/mL	9.9E-05 ± 9.9E-06	N/A	4.6E-05 ± 1.1E-05	Nude Salt 3 mg/mL	6.9E-05 ± 5.0E-07	7.4E-05 ± 3.3E-05	N/A
Nude Base 3 mg/mL	7.6E-05 ± 4.3E-06	N/A	2.4E-05 ± 1.2E-05	Nude Salt 40 mg/mL	8.3E-05 ± 3.1E-06	6.4E-05 ± 2.1E-05	N/A
Nude Base 18 mg/mL	8.0E-05 ± 3.5E-06	N/A	2.5E-05 ± 1.4E-05	Hit Nicotine 40 mg/mL	3.8E-04 ± 4.9E-05	1.9E-05 ± 3.7E-06	3.3E-06 ± 9.7E-07
Papaya 3 mg/mL	9.2E-05 ± 4.6E-06	3.2E-05 ± 1.6E-05	N/A	Berries 10 mg/mL	1.2E-04 ± 1.7E-05	2.9E-04 ± 5.3E-05	8.3E-06 ± 2.7E-06
Light Tobacco 3 mg/mL	9.6E-05 ± 2.7E-06	1.4E-04 ± 6.2E-06	6.8E-06 ± 9.3E-06	Berries 40 mg/mL	1.3E-04 ± 1.6E-06	4.1E-04 ± 4.0E-05	4.5E-05 ± 4.6E-05
Light Tobacco 18 mg/mL	1.2E-04 ± 4.4E-06	8.1E-05 ± 7.9E-07	2.8E-05 ± 3.3E-06	Tobacco 5%	1.3E-04 ± 2.0E-05	1.8E-04 ± 4.2E-06	1.7E-05 ± 5.8E-06
Free-base + Aspire BVC coil				**Nicotine salts + Aspire BVC coil**			
E-liquid	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**	**E-liquid**	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**
Melon 0 mg/mL	1.1E-04 ± 1.2E-05	***1.4E-02 ± 3.3E-04***[b]	3.1E-05 ± 6.3E-07	Nude Salt 3 mg/mL	6.6E-05 ± 1.8E-06	3.6E-04 ± 2.2E-05	N/A
Nude Base 3 mg/mL	7.6E-05 ± 9.3E-06	N/A	4.8E-06 ± 2.5E-06	Nude Salt 40 mg/mL	8.4E-05 ± 1.8E-06	***1.9E-03 ± 8.1E-06***	N/A
Nude Base 18 mg/mL	8.1E-05 ± 1.1E-06	N/A	9.6E-06 ± 9.1E-06	Hit Nicotine 40 mg/mL	4.9E-04 ± 6.5E-05	***3.8E-03 ± 4.6E-05***	2.9E-06 ± 3.3E-06
Papaya 3 mg/mL	1.1E-04 ± 7.2E-06	4.9E-04 ± 2.1E-05	7.1E-07 ± 4.6E-07	Berries 10 mg/mL	1.4E-04 ± 2.1E-05	***2.6E-03 ± 4.0E-04***	1.5E-05 ± 2.3E-06
Light Tobacco 3 mg/mL	7.1E-05 ± 5.6E-07	4.3E-04 ± 3.4E-06	8.5E-06 ± 2.9E-06	Berries 40 mg/mL	1.3E-04 ±	***1.7E-03 ±***	1.9E-05 ±

Light Tobacco 18 mg/mL	9.1E-05 ± 1.1E-05	4.2E-04 ± 8.5E-05	4.3E-05 ± 1.7E-05		1.7E-05	***1.9E-03***	1.2E-06
Free-base + Kanthal A-1 coil				**Nicotine salts + Kanthal A-1 coil**			
E-liquid	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**	**E-liquid**	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**
Melon 0 mg/mL	9.0E-05 ± 8.7E-06	N/A	2.4E-05 ± 5.0E-07	Nude Salt 3 mg/mL	6.1E-05 ± 2.9E-06	1.4E-05 ± 8.7E-06	N/A
Nude Base 3 mg/mL	8.2E-05 ± 8.6E-06	N/A	1.2E-05 ± 1.0E-05	Nude Salt 40 mg/mL	1.5E-04 ± 5.6E-06	6.0E-04 ± 7.2E-06	N/A
Nude Base 18 mg/mL	8.2E-05 ± 9.5E-06	N/A	7.2E-06 ± 2.3E-06	Hit Nicotine 40 mg/mL	2.8E-04 ± 2.6E-05	2.6E-05 ± 2.3E-05	1.2E-05 ± 7.0E-06
Papaya 3 mg/mL	8.2E-05 ± 5.6E-06	N/A	5.0E-06 ± 6.6E-08	Berries 10 mg/mL	9.7E-05 ± 1.3E-05	N/A	1.5E-05 ± 1.1E-05
Light Tobacco 3 mg/mL	7.1E-05 ± 3.4E-06	N/A	8.9E-06 ± 4.2E-06	Berries 40 mg/mL	9.9E-05 ± 2.5E-06	1.3E-05 ± 8.4E-06	5.9E-06 ± 2.1E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	9.2E-05 ± 1.8E-06	N/A	2.2E-05 ± 1.1E-06				
Free-base + Stainless steel 317L coil				**Nicotine salts + Stainless steel 317L coil**			
E-liquid	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**	**E-liquid**	**Cr (mg/day)**	**Ni (mg/day)**	**Pb (mg/day)**
Melon 0 mg/mL	9.5E-05 ± 3.4E-06	N/A	2.5E-05 ± 1.2E-06	Nude Salt 3 mg/mL	6.4E-05 ± 2.6E-06	6.6E-05 ± 2.9E-05	N/A
Nude Base 3 mg/mL	7.7E-05 ± 2.1E-07	N/A	N/A	Nude Salt 40 mg/mL	6.8E-05 ± 3.2E-06	4.1E-05 ± 2.0E-06	N/A
Nude Base 18 mg/mL	7.7E-05 ± 6.5E-06	N/A	1.7E-05 ± 2.1E-05	Hit Nicotine 40 mg/mL	1.8E-04 ± 1.3E-05	8.8E-06 ± 2.1E-06	N/A
Papaya 3 mg/mL	9.0E-05 ± 1.8E-06	N/A	6.5E-06 ± 2.7E-06	Berries 10 mg/mL	9.0E-05 ± 3.2E-06	N/A	1.1E-05 ± 1.2E-05
Light Tobacco 3 mg/mL	7.8E-05 ± 1.6E-06	N/A	N/A	Berries 40 mg/mL	1.1E-04 ± 1.1E-05	8.6E-06 ± 1.5E-06	1.3E-05 ± 5.1E-06
Light Tobacco 18 mg/mL	9.8E-05 ± 1.2E-05	N/A	4.4E-05 ± 1.2E-05				

[a]Table S.8 presents values from Table S.3 converted to mg/day using Eq. (4) to allow comparison with EDD_{ILV} (Table 3). Data shown in Table S.8 represents the metal mass in the EC vapor to which the vaper may be exposed daily when $n_{puff/day}$ = 500.
[b]Values in bold exceed the EDD_{ILV} calculated using MRLs.

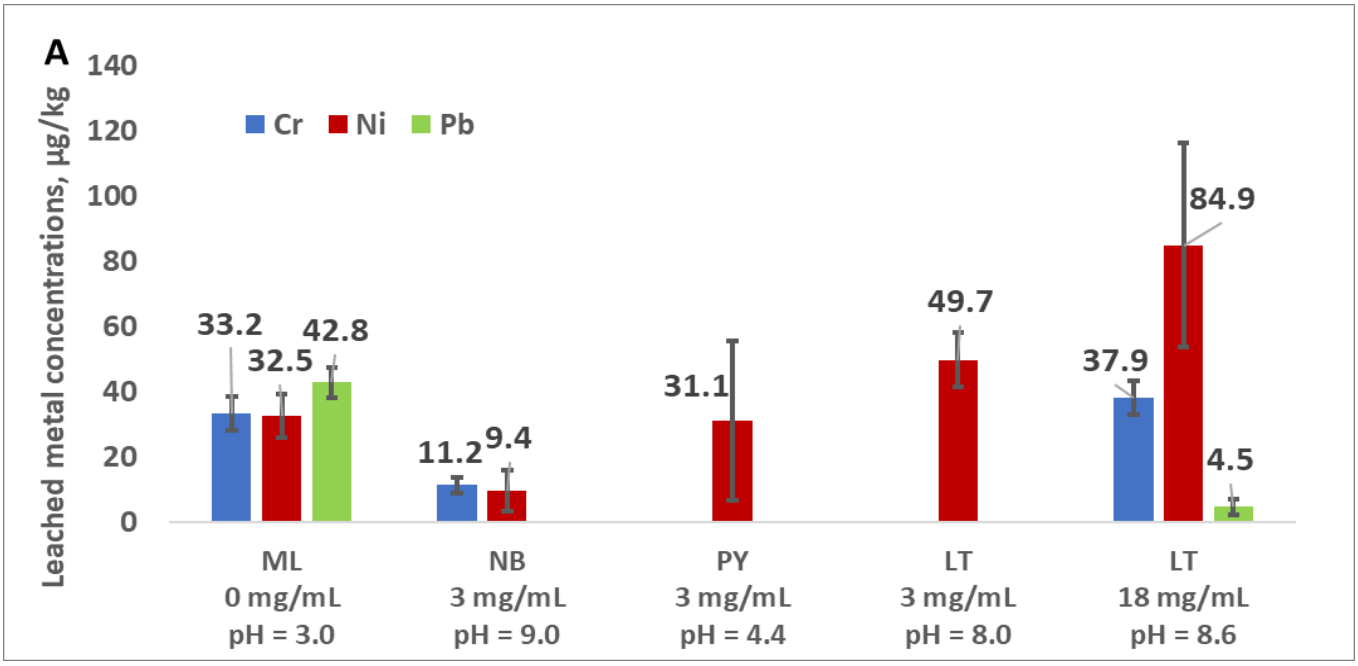

Figure S.1-A. Leached metal concentrations (µg/kg) from Nichrome 80 coil after contact with free-base nicotine e-liquids.

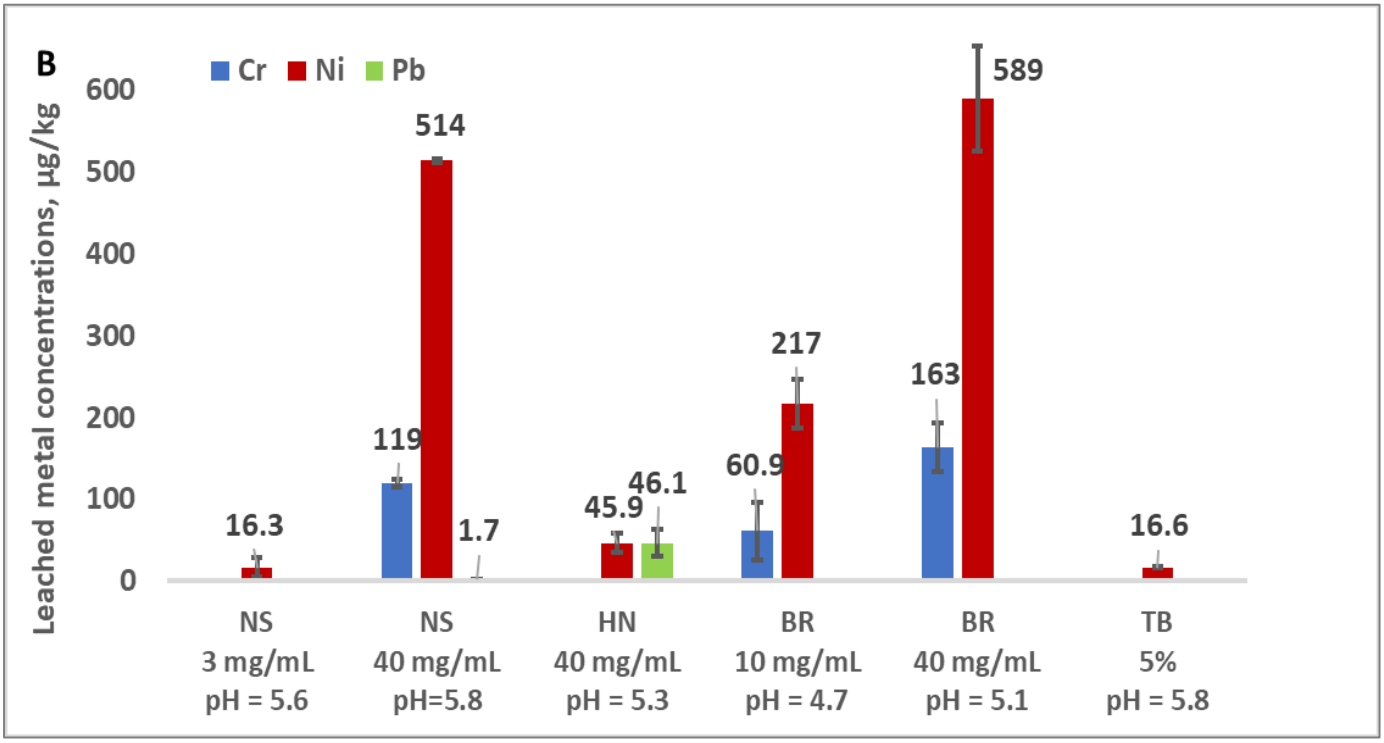

Figure S.1-B. Leached metal concentrations (µg/kg) from Nichrome 80 coil after contact with nicotine salt e-liquids.

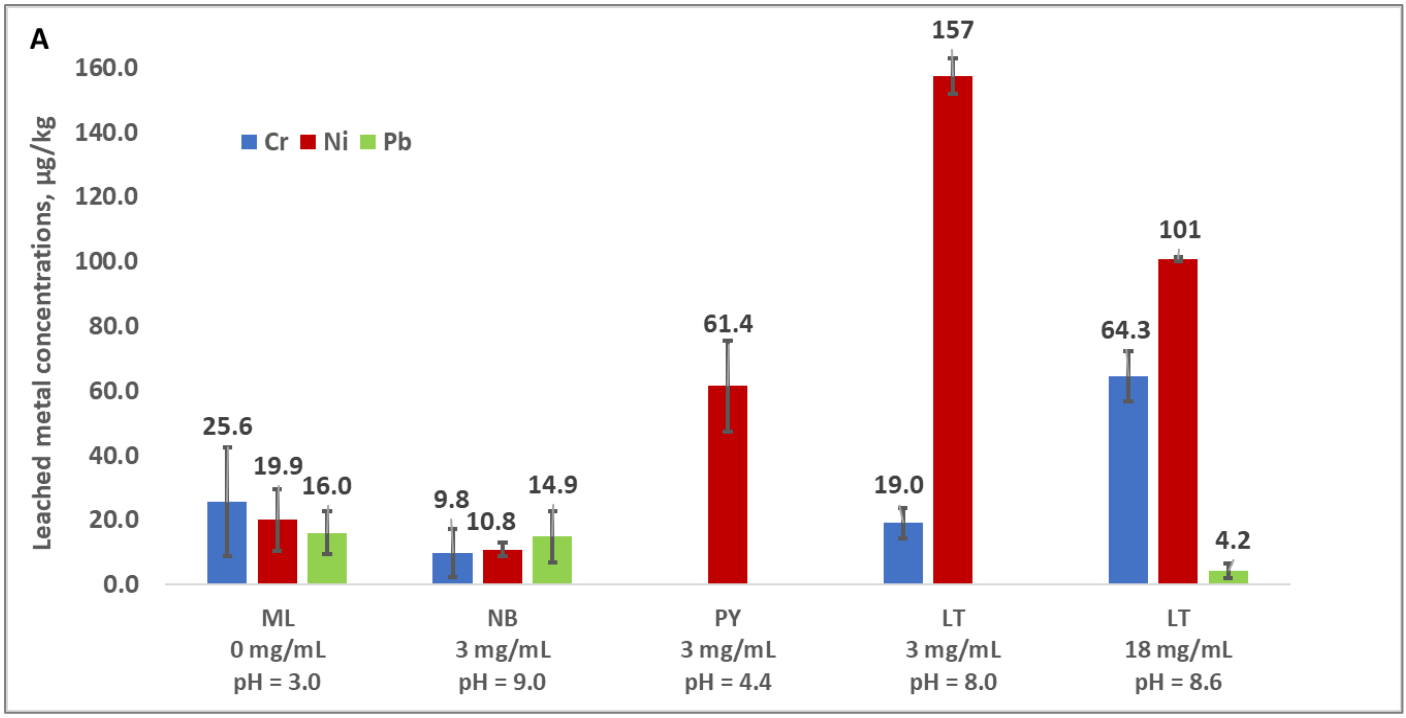

Figure S.2-A. Leached metal concentrations (µg/kg) from Juul coil after being in contact with free-base nicotine e-liquids.

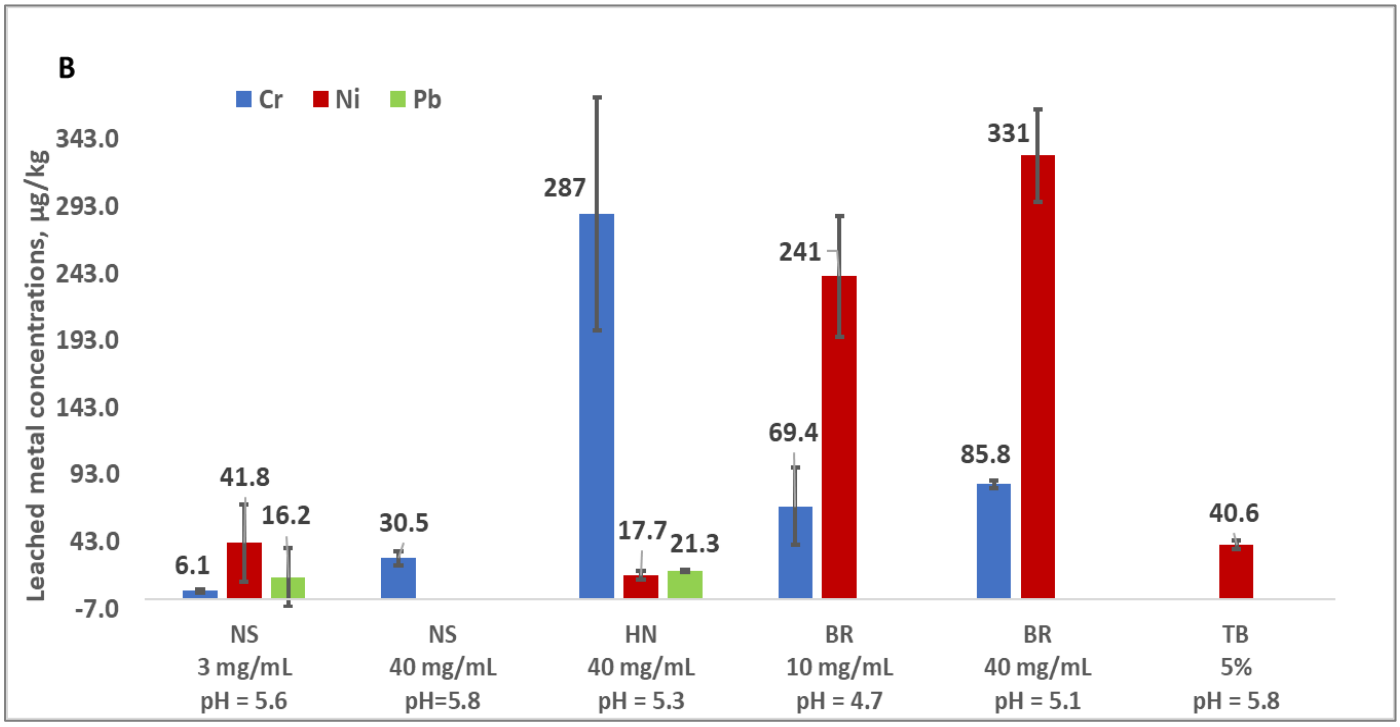

Figure S.2-B. Leached metal concentrations (µg/kg) from Juul coil after being in contact with nicotine salt e-liquids.

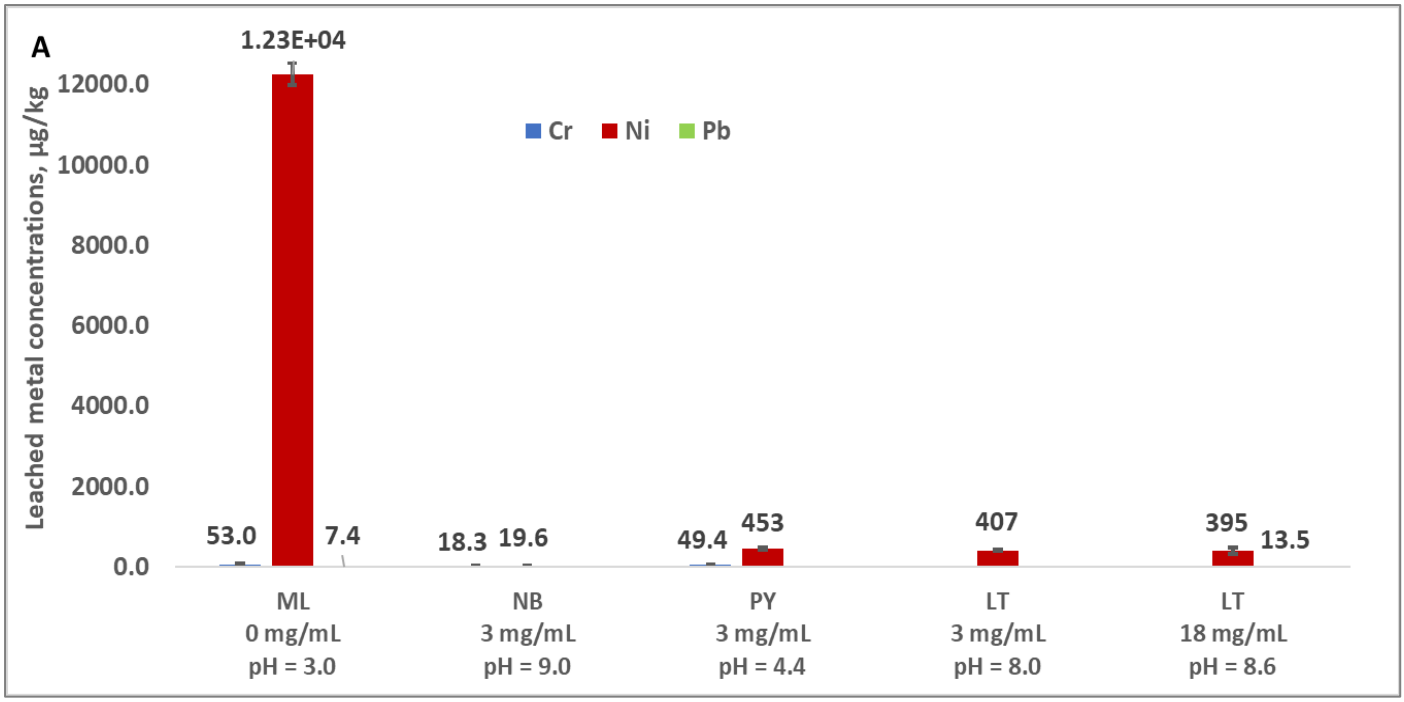

Figure S.3-A. Leached metal concentrations (µg/kg) from Aspire BVC coil after being in contact with free-base nicotine e-liquids.

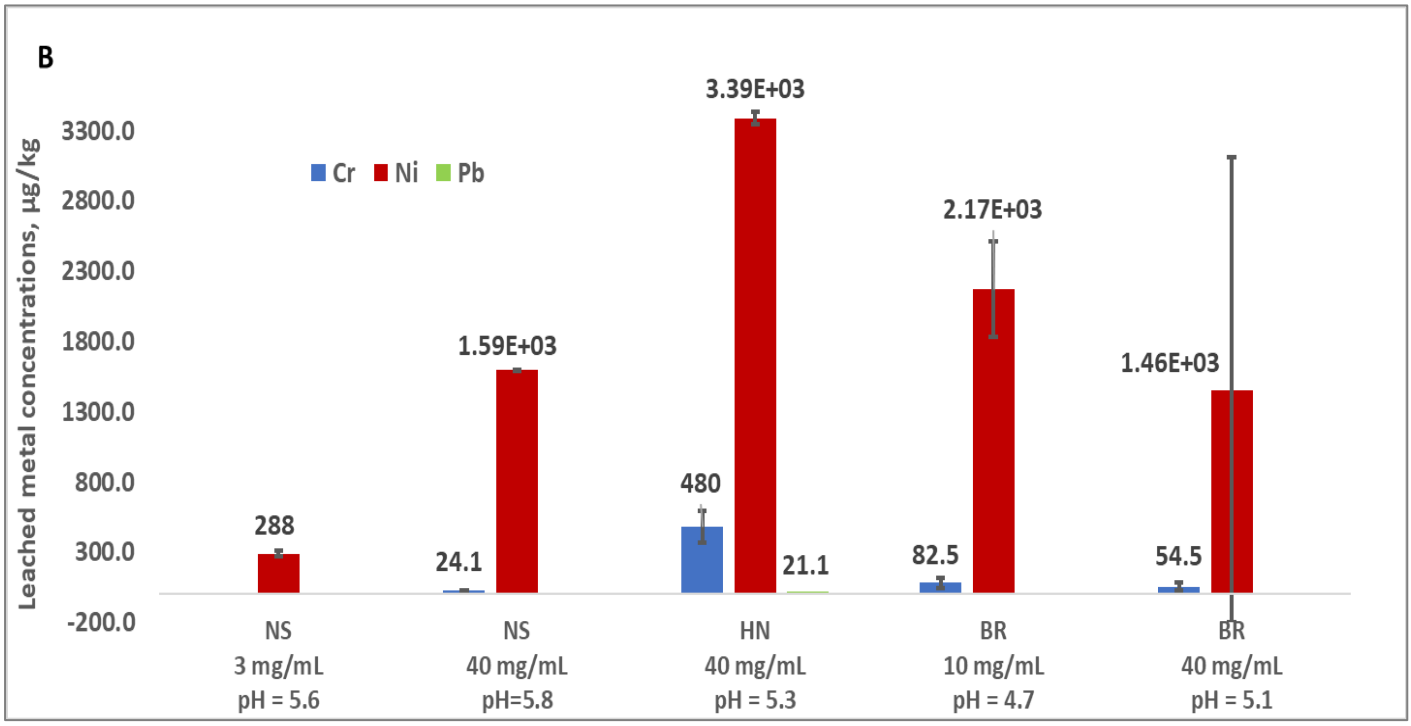

Figure S.3-B. Leached metal concentrations (µg/kg) from Aspire BVC coil after being in contact with nicotine salt e-liquids.

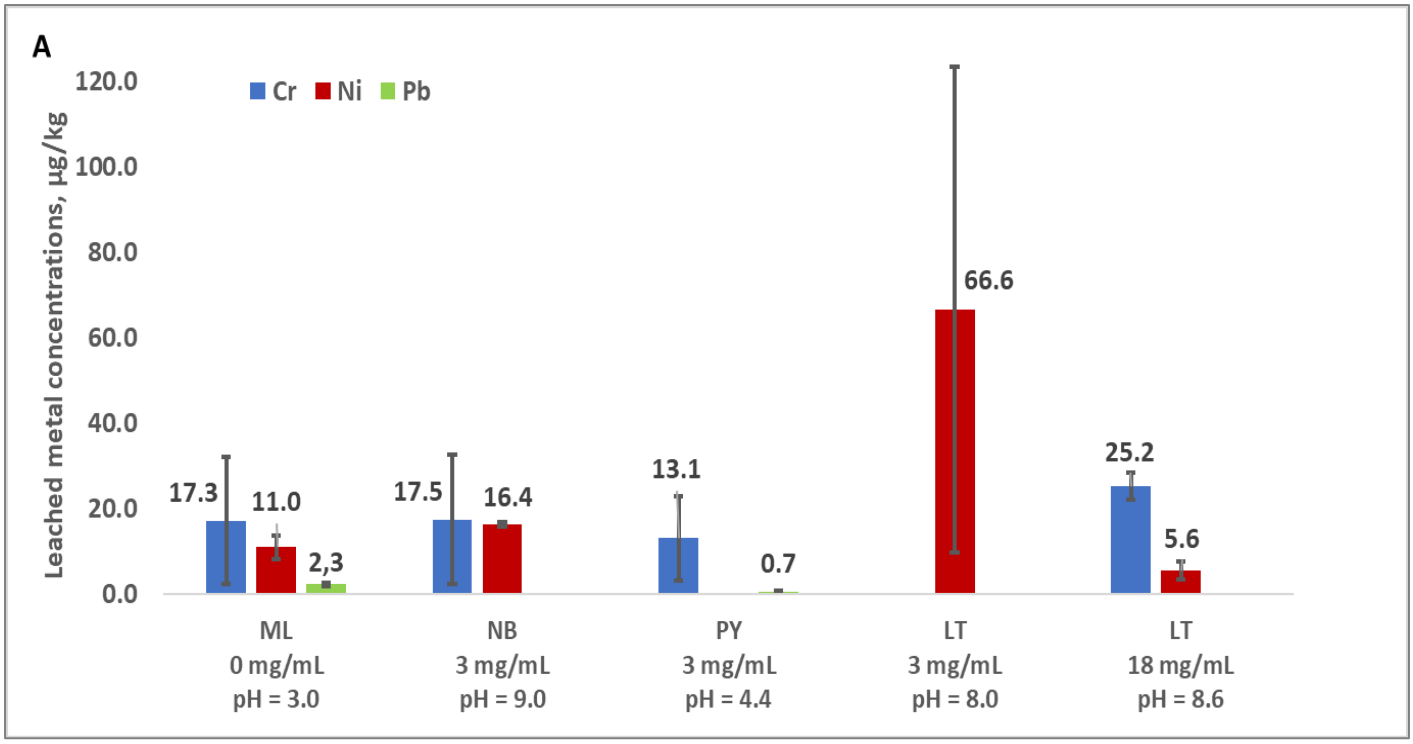

Figure S.4-A. Leached metal concentrations (µg/kg) from Kanthal A-1 coil after being in contact with free-base nicotine e-liquids.

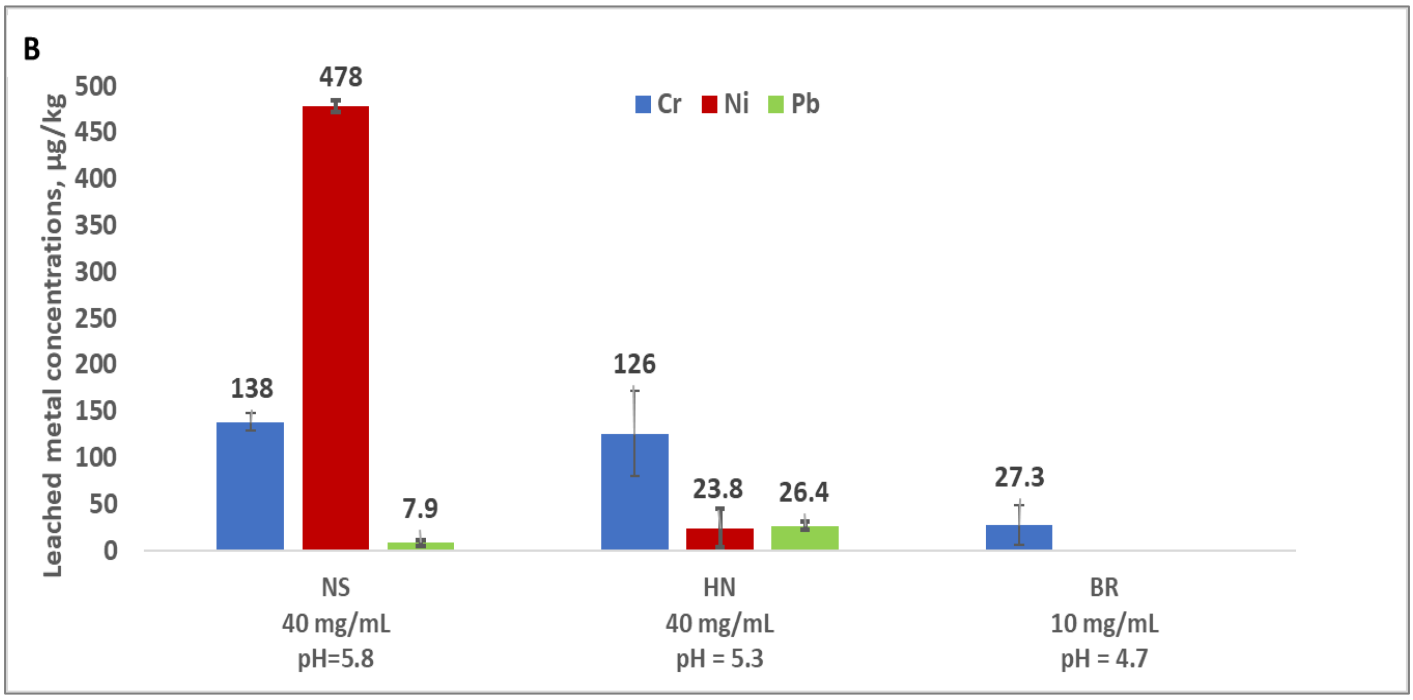

Figure S.4-B. Leached metal concentrations (µg/kg) from Kanthal A-1 coil after being in contact with nicotine salt e-liquids.

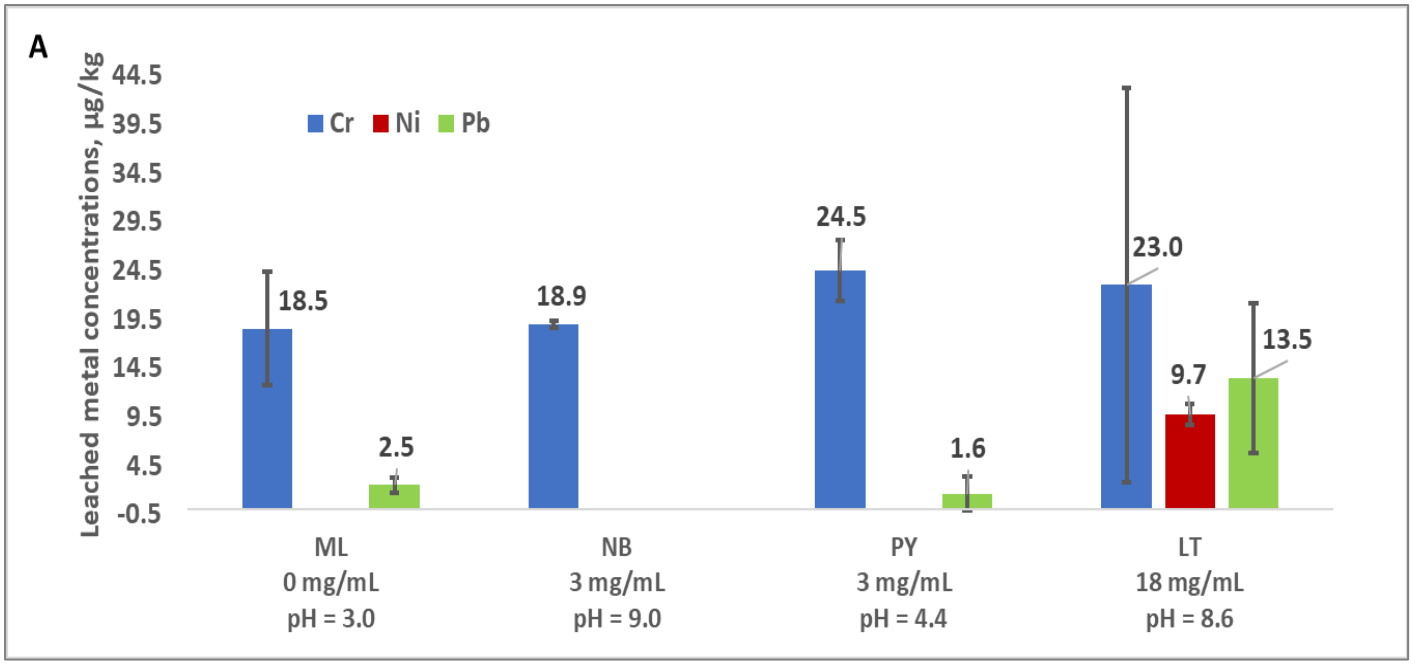

Figure S.5-A. Leached metal concentrations (µg/kg) from Stainless steel 317L coils after being in contact with free-base nicotine e-liquids.

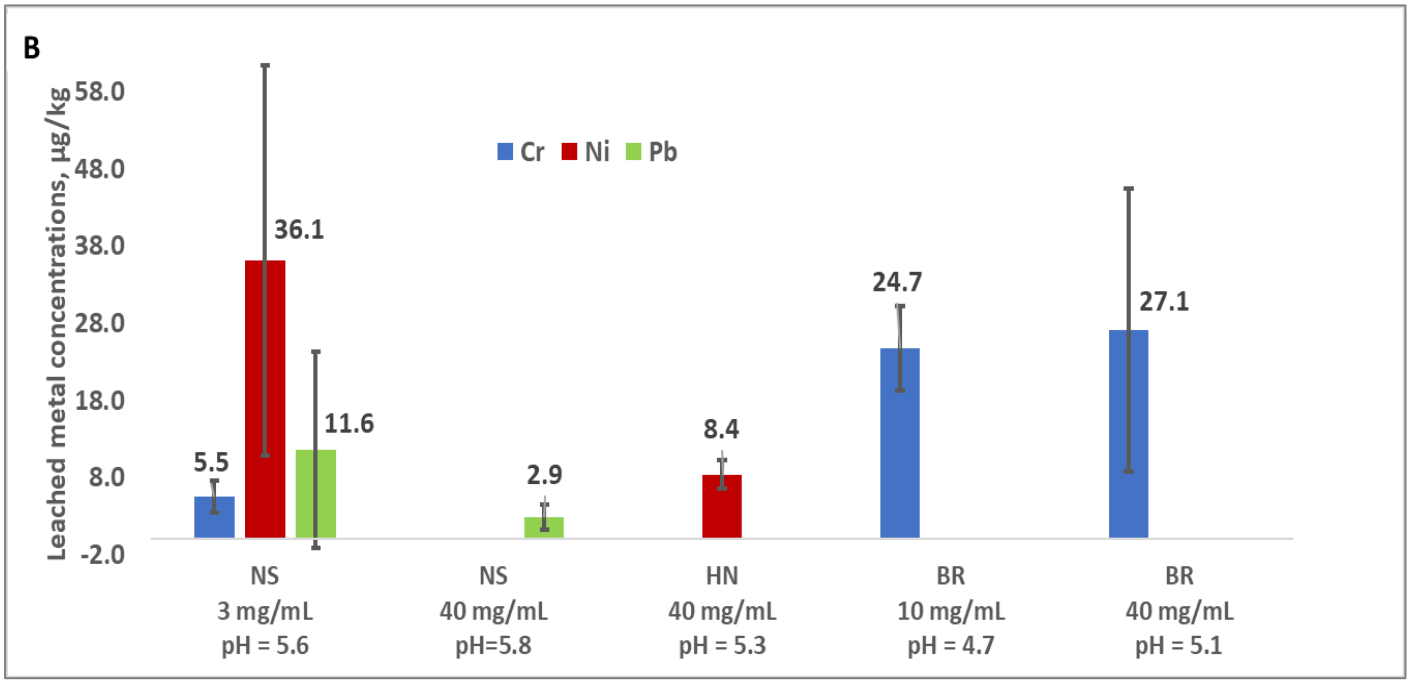

Figure S.5-B. Leached metal concentrations (µg/kg) from Stainless steel 317L coils after being in contact with nicotine salt e-liquids.