

CHE COSA SUCCEDE AGLI ELIQUIDI QUANDO DIVENTANO VAPORE

Le attività svolte in questi mesi per le analisi degli Eliquidi, grazie all'utilizzo di strumentazioni di avanguardia, usate nell'analitica sanitaria, ci hanno spinti alla conoscenza approfondita dei liquidi da inalazione o meglio del vapore da loro prodotto durante lo svapo. Il progetto che avevamo impostato nella tarda primavera 2016 infatti voleva non solo individuare le emissioni di alcune sostanze oggetto di monitoraggio nelle more della normativa europea TPD ma soprattutto comprendere come e cosa succedesse nella transizione di fase tra il liquido ed il suo vapore. Individuare la corrispondenza tra quanto presente nel liquido e quanto presente nel suo vapore a livello sia qualitativo che quantitativo necessitava di individuare un metodo di analisi che permettesse di codificare la chimica e la fisica dello svapo.

Dopo le prime valutazioni infatti abbiamo preferito evitare i sistemi [SPME](#) in quanto non riuscivamo a considerarli fisicamente simili allo svapo che conosciamo ed utilizziamo. In effetti la condizione dinamica della produzione di vapore, sia dal punto di vista del flusso che delle modalità di attivazione dei vaporizzatori non ci permetteva di individuare in queste tecniche di carattere quasi-statico le condizioni sperimentali realistiche che volevamo ricostruire. Le fasi di adsorbimento e deadsorbimento nella matrice solida poi rendevano non esattamente attendibile la misura.

Il sistema che abbiamo messo a punto invece sfrutta un sistema massa-massa che con in testa un sistema elettrospray permette di ionizzare il vapore a pressione atmosferica (API – Atmospheric Pressure Ionization) inviando il flusso saturo di ioni in [HPLC](#) ed individuando tutti gli elementi (compounds) presenti ed anche di quantificarli.

Per fare questo abbiamo utilizzato un atomizzatore single coil pilotato da un circuito DNA 75 in controllo di temperatura gestendo e monitorando con Escribe i puffs che simulano la "svapata", un calcolo per il dimensionamento della pompa a vuoto necessario per inviare nella camera di ionizzazione il vapore ci ha permesso di simulare un'aspirazione umana tipo e soprattutto di ottenere ripetibilità e determinabilità delle prove.

La durata dei puff è stata ottimizzata con l'ingresso anche di aria esterna (che riproduce la condizione di effetto Venturi relativo all'immissione di aria umida prelevata da un ambiente a temperatura ed umidità controllata) al fine di evitare l'oscuramento del sistema per eccesso di vapore che nei primi momenti sperimentali non ci permetteva di fare funzionare correttamente il sistema causa l'elevata sensibilità della macchina. Il problema della diluizione degli analiti è infatti genericamente uno degli elementi più delicati da mettere a punto nella definizione dei metodi in gascromatografia.

Il lavoro fatto sinergicamente da Nutrogenomics ed ISB è stato assolutamente fantastico. I

risultati ottenuti hanno anche ottenuto l'interesse di [Bruker](#) che è il costruttore del sistema SACI/ESI modificato in senso proprietario e già oggetto di brevettazione precedente da parte di ISB.

Il metodo di partenza è stato il SANIST tecnologia brevettata per applicazioni analitiche biologiche e chimiche in campo sanitario (Patents no. 7,368,728; Patents no. 8,232,520) ed in servizio già all'Istituto dei Tumori ed in altre strutture ospedaliere quali l'Ospedale di Desio.

Questa era una premessa doverosa, ora cercherò di spiegare meglio e praticamente questo lavoro.

La prima cosa che va evidenziata è che gli analiti oggetto delle verifiche premesso che questa è una situazione in generale diffusa, possono ancora prima della frammentazione che avviene nella sorgente separarsi in ioni a causa del processo di vaporizzazione, La tendenza, per principi chimico fisici di carattere conservativo porta ad individuare ioni la cui massa molecolare è la somma della molecola dai quali sono derivati tenuto conto dell'energia somministrata, questo è assolutamente normale che succeda durante le analisi in GC/MS, ma il fatto più interessante è che parte della frammentazione in ioni abbiamo scoperto anche dovuta alla loro vaporizzazione ovvero all'energia fornita dal sistema di svapo. In sostanza alcune molecole presenti certamente nel liquido non erano più presenti nella loro forma originaria nel vapore ma si trovavano solo i loro ioni frammentati.

Abbiamo analizzato altri analiti ad esempio la melatonina scoprendo in questo caso che non era possibile farla "volare" se non usando un carrier con maggiore quantitativo di VG ma comunque in quantità molto modeste ed in una forma ionica leggermente ridotta e non corrispondente precisamente alla molecola oggetto di identificazione.

Per esemplificare, immaginate un contenitore nel quale è inserito un carrier, acqua, una base neutra o un solvente con immerse tante palline colorate di diverso materiale che rappresentano le molecole (aromi, nicotina, altri compounds...) presenti in una miscela da svapo. Ci saranno "palline" più leggere che potranno "volare" trasportate dal carrier, altre che rimarranno dove sono ed altre ancora che si spaccheranno in frammenti che saranno in grado di "volare". Un carrier diverso potrà ottenere risultati diversi. Per questo non è assolutamente detto che ciò che si trova nel liquido si ritrovi tal quale nel vapore e tanto meno che ciò che è noto essere presente in una soluzione a titolo determinato vaporizzi completamente e congruentemente al quantitativo stesso presente nel liquido. Le condizioni dello svapo, il carrier (la base usata) influenzano significativamente i risultati e gli stessi sono anche non prevedibili. Parliamo spesso di sostanze tossiche rinvenute nei liquidi da inalazione ma spesso ferme all'analisi del liquido dal solo punto di vista del preparato chimico, la [TPD](#) ha giustamente posto l'attenzione su ciò che effettivamente inaliamo cioè il vapore nel mix di compounds che lo compongono.

Il richiamo precedente vuole essere riferito in modo particolare a tali articoli, anche di recente pubblicazione, che hanno evidenziato affermazioni generaliste e non supportate da adeguate argomentazioni scientifiche, va da sé che la stampa spesso non ritiene utile approfondire, per volontà o per incapacità, gli argomenti prima di rendere pubbliche le informazioni. La validazione della fonte e dei metodi dovrebbe essere il primo elemento per svolgere una corretta informazione e per non provocare allarmismi strumentali.

Oggi infatti i metodi di analisi dei liquidi da inalazione, seppur ancora non inquadrati in normative ISO specifiche possono essere svolti con coerenza alla fisica dello svapo e non alla sola chimica analitica.

In base alla sensibilità ed al metodo di analisi costruito abbiamo poi definito dei livelli di cut-off strumentale che tengono conto sia dello standard interno alla macchina usata che del sistema di vaporizzazione consentendoci di non considerare analiti presenti sotto le soglie definite tenuto conto che la loro deviazione standard è valutata in modo proporzionale alle soglie suddette e quindi può modificare sia in senso positivo che negativo il valore assoluto della concentrazione dell'analita considerato. Questi compounds tagliati nel vapore possono certamente essere presenti in soglie minime nella fase liquida, ma quale utilità ha per noi saperlo se non per cultura scientifica? Gli eliquids sono inalati, non bevuti.

Le soglie di cut-off sono state valutate tenendo considerazione di alcuni elementi sia di carattere tecnologico che fisico:

- volume aria ispirato e concentrazione effettiva all'atto inalatorio dell'analita considerato;
- standard interno selezionato per il funzionamento del sistema massa/massa;
- significatività dei valori campionati;

Questo è stato il nostro approccio, ed il metodo che è derivato, ci sta spingendo a fare con entusiasmo studi e verifiche sulle miscele usate per le basi, ad esempio per la valutazione dello sviluppo dell'acroleina in base alla percentuale di VG presente e delle modalità di utilizzo del sistema. Il modulo Escribe usato per pilotare la coil è stato utilissimo, sembrava progettato ad hoc per questo scopo ed il fatto di conoscere il quantitativo di energia somministrato e l'interazione molecolare in spazi confinati e ridotti con il relativo effetto ci ha permesso di aprire altri scenari dei quali vi parleremo a breve