

28. Dezember 2021

Gesundheitliche Risiken durch Aromen in E-Zigaretten: Es besteht Forschungsbedarf

Bitte beachten:

Bitte beachten Sie dazu die folgende Mitteilung vom 4. Dezember 2024:
<https://www.bfr.bund.de/cm/343/aromastoffe-in-e-zigaretten-aktualisierte-bewertung-von-safrol-sucralose-und-menthol.pdf>

DOI 10.17590/20211228-104539

Gesundheitliche Risiken durch Aromen in E-Zigaretten: Es besteht Forschungsbedarf

Stellungnahme Nr. 043/2021 des BfR vom 28. Dezember 2021

Aromen erhöhen die Attraktivität von E-Zigaretten, wie der Bericht über E-Zigaretten des Wissenschaftlichen EU-Ausschusses für „Gesundheit, Umwelt- und neu auftretende Risiken“ (SCHEER) aufzeigt. Über die Aufnahme von Aromastoffen und ihre gesundheitliche Wirkung als Aerosole über die Lunge ist dagegen wenig bekannt. Eine gesundheitliche Risikobewertung von spezifischen Aromen in E-Liquids ist derzeit somit nur für wenige Stoffe möglich.

Der deutsche Gesetzgeber regelt in der Tabakerzeugnisverordnung, welche Stoffe in Liquids von E-Zigaretten aufgrund ihrer gesundheitsschädlichen Wirkung verboten sind. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) gibt Empfehlungen für den Einsatz von Aromen in E-Liquids.

Das BfR hat anhand von Literaturstudien die Konzentrationen von Aromen in E-Liquids mit denen in Lebensmitteln bzw. von Haushaltsprodukten verglichen und Daten zusammengetragen, die die Toxizität von Aromen bei Inhalation untersuchen.

Zudem forscht das BfR, um die Datengrundlage für die gesundheitliche Risikobewertung von Aromen in E-Liquids zu verbessern.

 BfR-Risikoprofil: Aromen in Liquids für E-Zigaretten (Stellungnahme Nummer 043/2021)	
A Betroffen sind	Konsumierende von E-Zigaretten 
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Aufnahme von Aromastoffen aus E-Liquids	Praktisch ausgeschlossen Unwahrscheinlich Möglich Wahrscheinlich Gesichert
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Aufnahme von Aromen aus E-Liquids	Keine Beeinträchtigung Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] Mittelschwere Beeinträchtigung [irreversibel] Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]
D Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich
E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher (1)	Kontrolle nicht notwendig Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen Kontrollierbar durch Verzicht Nicht kontrollierbar

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nummer 043/2021 des BfR vom 28. Dezember 2021).

Erläuterungen

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

Zeile E – Kontrollierbarkeit durch Verbraucherinnen und Verbraucher

- (1) Das Risiko sollte durch den Gesetzgeber reguliert werden.

Gegenstand der Bewertung

Aromen erhöhen die Attraktivität der Nutzung elektronischer Zigaretten. Die Aerosole von E-Zigaretten enthalten im Vergleich zum Rauch von Tabakzigaretten deutlich weniger gesundheitsschädliche Substanzen, sie stellen aber dennoch ein Risiko für die Atemwege dar. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat die Datenlage hinsichtlich möglicher gesundheitlicher Risiken von Aromen in den Liquids von elektronischen Zigaretten bewertet.

Ergebnis

In den Aerosolen von E-Zigaretten wurden u. a. gesundheitsschädliche Carbonylverbindungen nachgewiesen, die durch die thermische Zersetzung der Liquidbasis (Propylenglycol und Glycerol) entstehen. Unter normalen Betriebsbedingungen der E-Zigaretten wurden allerdings im Vergleich zu konventionellen Tabakzigaretten sehr geringe Konzentrationen von Carbonylverbindungen gemessen. Dem BfR sind keine spezifischen Daten bekannt, die zeigen, dass durch bestimmte Aromen der Gehalt an Carbonylverbindungen steigt. Allerdings erschwert das Fehlen inhalationstoxikologischer Daten die spezifische Risikobewertung von Aromen in E-Liquids. Die Extrapolation von Daten aus *In-vitro*-Studien auf Gesundheitsrisiken beim Menschen bleibt somit hypothetisch, z. B. erlaubt sie keine Aussage in Bezug auf mögliche Gewebeschädigungen. Insgesamt sind die Ergebnisse der verschiedenen *In-vitro*-Studien zur Toxizität von E-Zigaretten und E-Liquids aufgrund der unterschiedlichen Studiendesigns, Geräteeinstellungen und Nikotingehalte sowie der verschiedenen angewandten Zellkulturtechniken nicht schlüssig. Es gibt Hinweise, dass einige Substanzen genotoxische und mutagene Wirkungen aufweisen, allerdings fehlen bisher Daten für ein entsprechendes Expositionsszenario, um eine Risikobewertung für die Verwendung von Aromen in E-Zigaretten durchzuführen.

Die gesundheitlichen Auswirkungen durch Inhalation von Aromasubstanzen sollten weiter untersucht werden. Insbesondere Zimtaldehyd und Vanillin werden kontrovers diskutiert. Aufgrund der Vielfalt der verwendeten Aromastoffe sollten künftig auch *In-silico*-Modelle verwendet werden, um Daten für die Risikobewertung zu erhalten und gesundheitsschädliche Auswirkungen vorhersagen zu können.

Dennoch sieht das BfR bezüglich der Identifizierung aktueller Kandidaten für die Aufnahme in Anlage 2 der Tabakerzeugnisverordnung (TabakerzV) Handlungsbedarf und schlägt folgende Substanzen vor:

1) Safrol

Der Vorschlag erfolgt in Ergänzung zu den bereits gelisteten Naturprodukten, in denen der Stoff vorkommen kann. Die Aufnahme in Anlage 2 ist erforderlich, da der Zusatz von Safrol auch aus anderen als den gelisteten Quellen möglich ist.

2) Sucralose

Bei Erhitzung von Sucralose auf Temperaturen von über 120 °C bilden sich gesundheitsschädliche chlorierte Verbindungen.

3) Menthol

Menthol besitzt eine lokale narkotische Wirkung. Die Substanz erleichtert die Inhalation von Aerosolen und die Aufnahme von Nikotin. Es liegen Studienergebnisse vor, die darauf hindeuten, dass die Substanz bei der Entstehung von Atemwegserkrankungen eine Rolle spielt.

Um den Gesundheitsschutz zu verbessern und insbesondere Jugendliche vom Rauchen und Dampfen abzuhalten, wurde die europäische Tabakprodukttrichtlinie erlassen. Diese wurde im Jahr 2016 mit dem Tabakerzeugnisgesetz und der Tabakerzeugnisverordnung in deutsches Recht umgesetzt. Die Anlagen 1 und 2 der Tabakerzeugnisverordnung regeln das Verbot von Zusatzstoffen und Inhaltsstoffen in Tabak, Liquids und Nachfüllbehältern.

Begründung

Konsumenten können aus einem sehr großem Angebot verschiedener Geschmacksrichtungen für E-Liquids wählen. Über 7.000 verschiedenen E-Liquidaromen sind derzeit erhältlich.¹ Es gibt den bekannten Tabakgeschmack sowie Aromen, die z. B. nach Früchten, Süßigkeiten oder Getränken schmecken. Die Verdampfungsmittel Polypropylenglykol (PG) und Glycerin (VG) allein haben fast keinen Geschmack. Aromastoffe umfassen eine Vielzahl von Verbindungen, von denen die meisten als GRAS (Generally Recognized As Safe) gelten und damit in Lebensmitteln verwendet werden dürfen. Der GRAS-Status ist jedoch kein ausreichender Beweis für die Sicherheit als Tabakzusatzstoff, da die Substanz inhaliert und nicht oral aufgenommen wird.

Durch Erhitzen und Verdampfen von Aromen können toxische Substanzen entstehen. Bisher sind Aromasubstanzen nicht ausreichend auf ihre Inhalationstoxikologie getestet. Einige sind zudem gemäß der Europäischen Verordnung zur Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (CLP) als hautreizend und/oder augenreizend klassifiziert.

Die große Anzahl an E-Liquid-Geschmacksrichtungen stellt die Risikobewertung vor eine große Herausforderung. Denn es muss nicht nur der Einfluss des einzelnen Aromastoffes berücksichtigt werden, sondern auch der Einfluss von Gemischen verschiedener Aromen sowie mögliche chemische Reaktionsprodukte, die sich durch Erhitzung und Aerosolzeugung bilden.

Das E-Liquid kommt mit der Heizspule in Kontakt und wird auf 100-150 °C erhitzt, um ein Aerosol zu bilden. Es wird angenommen, dass die Spule Einfluss auf die Pyrolyse des E-Liquids hat und es beim Erhitzen zur Zersetzung flüssiger Inhaltsstoffe kommt.² Vreeke et al. berichten, dass während der Aerosolisierung eine Esterhydrolyse von Triacetin zu Essigsäure stattfindet. Die Essigsäure kann dann beim Abbau von Propylenglykol und Glycerin als Katalysator wirken und erhöht die Bildung von Formaldehyd-Halbacetalen, Acrolein und Acetaldehyd.³ Im Aerosol wurden auch Furane nachgewiesen, die durch die thermische Zersetzung von Zuckern entstehen.² Das BfR wies 2019 in seiner Stellungnahme zum Süßstoff Sucralose in Lebensmitteln bereits darauf hin, dass der Stoff sich unter Bildung von gesundheitsschädlichen chlorierten Verbindungen zersetzt, wenn er auf Temperaturen von über 120 °C erhitzt wird.⁴ Der in der Europäischen Union als E 955 zugelassener Süßstoff wird in süßen E-Liquids verwendet. Einige Händler bieten bereits E-Liquids ohne Sucralose an. Die Branchenverbände haben Untersuchungen in Auftrag gegeben, die ebenfalls zu dem Schluss kamen, dass eine Zersetzung auch im E-Liquid stattfindet, wenn es erhitzt wird.

Für mögliche Regulierungsschritte ist es notwendig, einen Überblick über die auf dem Markt verfügbaren E-Liquids und Geschmacksrichtungen zu erhalten. Krusemann et al. und Havermans et al. haben in einer Erhebung, die sich auf fast 20.000 in den Niederlanden vermarktete E-Liquids bezieht, eine Klassifizierung basierend auf Eintragungen im zentralen EU-Notifizierungsportal (EU-CEG) der Hersteller vorgenommen.^{5, 6} Ein Ergebnis ist das E-Liquids-Aroma-Rad, das aus 16 Hauptkategorien besteht. Für 85 % der E-Liquids lagen ausreichende Informationen vor, um 245 eindeutige Aromen zu identifizieren.

Die Zusammensetzung der E-Liquids variiert stark. Im Durchschnitt werden ca. 10 Aromasubstanzen pro E-Liquid verwendet.⁷ Weitere Inhaltsstoffe sind Trägersubstanzen, Faserbestandteile, Feuchthaltemittel, Lösungsmittel und Stabilisatoren. Sie dienen dazu, den Rauchgeruch zu verändern sowie Hydrophobie und Viskosität zu optimieren.

Nutzungshäufigkeit

Laut Umfragen verwenden die meisten Konsumenten aromatisierte E-Zigaretten. Sie wechseln die Aromen häufig und geben an, dass diese sehr wichtig sind, um nicht wieder mit dem Rauchen von Tabakzigaretten zu beginnen oder auch um von der Tabakzigarette wegzukommen.^{8,9}

Im Eurobarometer 2021 – Umfrage zur „Einstellung der Europäer zu Tabak und elektronischen Zigaretten“ wurden 28.228 Menschen in 27 Mitgliedsstaaten sowie in Großbritannien befragt.¹⁰ Dabei wurden auch die beliebtesten Geschmacksstoffe abgefragt, die mindestens einmal pro Monat konsumiert werden. Am häufigsten wurden fruchtige Aromen, wie Kirscher oder Erdbeergeschmack (48 %), gefolgt von Tabakgeschmack (36 %) genannt. Drei von zehn Befragten verwenden Menthol- oder Minzgeschmack und einer von fünf Befragten konsumiert Liquids, die Schokolade oder Vanillegeschmack aufweisen. Mehr als ein Zehntel verwendet Nikotinsalzliquid (12 %). Alkoholgeschmack wie Whisky oder Champagner ist am wenigsten beliebt, nur 4 % der Befragten bevorzugen diesen. Im Vergleich zum Jahr 2017 verwendeten die Nutzerinnen und Nutzer von E-Zigaretten im Jahr 2021 häufiger Menthol- oder Minzgeschmack (+ 8 Prozentpunkte) sowie etwas häufiger Süßigkeiten- oder Alkoholgeschmack (beide + 2 Prozentpunkte).

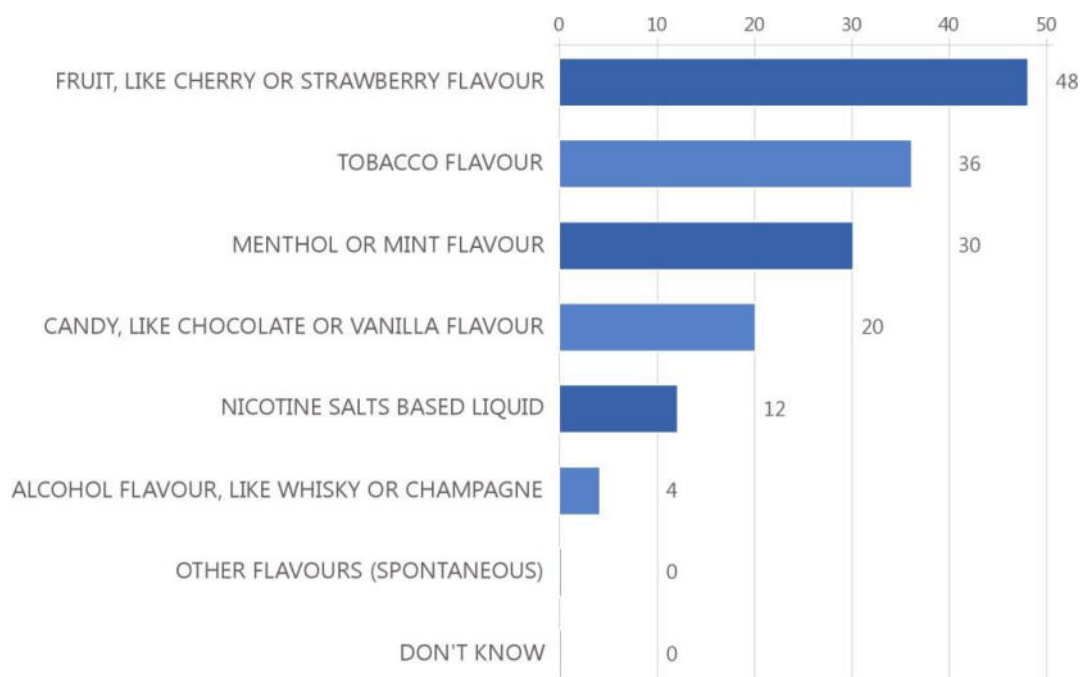


Abbildung 1: Übersicht über die beliebtesten E-Liquid-Geschmacksrichtungen. (Entnommen aus dem Special Eurobarometer 506 aus 2021: Attitudes of Europeans towards tobacco and electronic cigarettes.)¹⁰ (n = 28288, x-Achse: % - EU 27 + UK)

Es wurde übereinstimmend festgestellt, dass Aromen sowohl Jugendliche als auch Erwachsene zum Konsum elektronischer Zigaretten anregen, wobei die Vorliebe je nach Altersgruppe und Raucherstatus variiert. Aromen spielen eine wichtige Rolle bei der Entscheidung, E-Zigaretten zu konsumieren. Die Aroma-Vorlieben variieren je nach Altersgruppe und Raucherstatus:

Elektronische Zigaretten mit Tabakgeschmack sind bei den über 55-Jährigen wesentlich beliebter als bei den 15- bis 24-Jährigen, während die jüngeren Befragten viel eher elektronische Zigaretten mit Fruchtgeschmack und etwas häufiger elektronische Zigaretten mit Süßigkeitengeschmack bevorzugen. Laut Umfragen verringern Aromen die Schadenswahrnehmung und erhöhen die Bereitschaft, elektronische Zigaretten auszuprobieren. Für Jugendliche ist der Geschmack der wichtigste Faktor beim Ausprobieren elektronischer Zigaretten. Sie waren eher bereit mit dem Konsum von elektronischer Zigaretten zu beginnen, wenn diese einen bestimmten Geschmack aufwiesen. Bei den befragten Erwachsenen erhöhen die Aromen die Attraktivität des Produkts und sind für viele ein Hauptgrund, elektronische Zigaretten zu nutzen. Aromen dienen demnach dazu, die Vorliebe für E-Zigaretten zu steigern, während Nikotin eine stimulierende Wirkung auf das Belohnungssystem im Gehirn hat, welches an der Entstehung von Sucht beteiligt ist.

Es gibt schwache Hinweise auf eine positive Wechselwirkung zwischen Mentholaroma und Nikotinstärke.¹¹ Die typische Nikotinaufnahme aus einer herkömmlichen Zigarette beträgt 1 mg (Bereich 0,3-2 mg), wobei der Nikotinspiegel im Blut durchschnittlich zwischen 15 und 30 mg/mL liegt. Studien über den Konsum elektronischer Zigaretten haben ergeben, dass die Nikotinwerte im Serum je nach Dauer des Konsums und der Topographie des Rauchens genauso hoch sein können wie bei der Verwendung einer herkömmlichen Zigarette.^{12, 13}

Krüsemann et al. untersuchten 16.839 E-Liquids vom niederländischen Markt unter Verwendung der Information der E-Zigarettenhersteller (EU-CEG) mit dem Ziel, die Aromazutaten, die am häufigsten verwendet werden, zu identifizieren.⁷ Unter Berücksichtigung der quantitativen und qualitativen Information zu den Inhaltsstoffen kann die entsprechende Geschmackskategorie mittels eines maschinellen Lernalgorithmus vorhergesagt werden. Am häufigsten wurden Vanillin (in 35 % aller E-Liquids), Ethylmaltol (in 32 % aller E-Liquids für süßen Karamellgeschmack) und Ethylbutyrat (in 28 % aller E-Liquids für Geschmack tropischer Früchte wie Ananas oder Orange) identifiziert. 29 der verwendeten Aromen waren spezifisch für eine bestimmte Geschmackskategorie.

Gesundheitlich bedenkliche Aromasubstanzen

Aromastoffe gelten als unbedenklich für die Aufnahme durch den Magen-Darm-Trakt, sofern ihr Gehalt unterhalb der höchsten Dosis ohne beobachtete schädliche Wirkung (NOAEL) liegt. Teilweise wird für die Risikobewertung von Aromen, z. B. in Haushaltsprodukten oder kosmetischen Mitteln, auch die Gesamtexposition ohne Berücksichtigung des Expositionsweges angegeben. Alle Aromastoffe sind jedoch in höheren Konzentrationen von Natur aus toxisch. Daher ist die Inhalation des E-Liquid-Aerosols und damit der zugesetzten und als Lebensmittelzusatzstoff zugelassenen Aromastoffe nicht in jedem Fall gesundheitlich unproblematisch.¹⁴ Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) und die „Flavor and Extract Manufacturers Association“ (FEMA) weisen darauf hin, dass Aromen nur für die Verwendung in Lebensmitteln bewertet wurden. Sie erklären darüber hinaus, dass die angegebenen Konzentrationswerte nicht für die Aufnahme über eine Inhalation als sicher zu bewerten sind. Die chemische Reaktivität der in elektronischen Zigaretten verwendeten Aromastoffe ist noch nicht eingehend untersucht. Es wurde berichtet, dass bei der Aerosolisierung von aromatisiertem E-Liquid potentiell gesundheitsschädliche Aldehyde entstehen. Es ist nicht klar, ob die Aldehyde von den Aromen oder den Aerosolisierungsmitteln im E-Liquid

wie Propylenglykol und Glycerin stammen.³ Die Bildung von Aldehyden wurde mit oxidativem Stress^{15, 16} und Entzündungsreaktionen^{17, 18} in Verbindung gebracht. Die toxikologischen Eigenschaften der am häufigsten verwendeten Aromen (Vanillin, Ethylmaltol, Ethylbutyrat) sowie von Maltol und Menthol sind in der SCENIHR-Stellungnahme Tabakzusatzstoffe 1 (2016) beschrieben.¹⁹

Fruchtaroma: Ester-Verbindungen sind maßgeblich für das Aroma reifer Früchte wie Äpfel und Erdbeeren. Ethylacetat, Ethylbutyrat und Ethylhexanoat gehören zu den am häufigsten vorkommenden Estern und sind in praktisch in allen E-Liquids mit fruchtigem Geschmack enthalten. Hohe Konzentrationen von Ethylacetat, Ethylbutyrat und Ethylhexanoat werden auch in der Parfümerie verwendet. Es gibt Berichte, dass solche Ester schleimhautreizend wirken, wenn sie eingeatmet werden. Bei hohen Konzentrationen von über 50-400 ppm wurden Hautschäden und bei Konzentrationen von über 1000 ppm Müdigkeit, Atemwegsreizungen und Atemnot berichtet.¹⁴

Benzaldehyd und Zimtaldehyd: Die Hauptbestandteile von Mandel- und Kirscharomen in Süßwaren und Erfrischungsgetränken sind auch im ätherischen Öl von Mandeln, Aprikosen, Kirschen, Pfirsichkernen und Lorbeerblättern enthalten. Die Exposition von Ratten gegenüber über 500 ppm Benzaldehyd durch Einatmen bzw. über die Augen führte zu klinischen Symptomen wie verzögerter Gewichtszunahme und Hautsensibilisierung. Eine milde Exposition gegenüber niedrigen Konzentrationen führte bei Kaninchen zu Ödemen und Nasenreizungen, während eine Exposition von über 750-1000 ppm zum Tod führte.²⁰ Zimtaldehyd verleiht dem Zimt seinen unverwechselbaren Geschmack und wird in zahlreichen kosmetischen Produkten und Lebensmitteln wie Kaugummi, Eiscreme, Getränken sowie E-Zigaretten in Konzentrationen von bis zu 5000 ppm verwendet. In Haushaltsprodukten wie beispielsweise Reinigern wird es als Mückenschutzmittel verwendet, das bereits ab einer Konzentration von 29 ppm wirkt.²¹ Die Aufnahme von Zimt gilt bei niedrigen Konzentrationen als nicht toxisch, wobei Zimtsäure der primäre Metabolit ist, der mit dem Urin ausgeschieden wird. Zimtaldehyd (Zimtaroma) wirkt bei Inhalation reizend auf Rachen und Atemwege.²² Es bildet mit den E-Liquid Trägerstoffen Propylenglykol und Glycerol neue Reaktionsprodukte.²³ Zimtaldehyd beeinträchtigt die mitochondriale Funktion sowie den Zilienschlag von Bronchialepithelzellen und somit die Abwehrfunktion dieser Atemwegszellen.²⁴

Vanillin und Ethylvanillin. Hersteller verwenden Vanillin und Ethylvanillin für Schokoladen- und Speiseeisherstellung. Die Substanzen werden auch in zahlreichen Haushaltsprodukten als Duftstoffe verwendet, um unangenehmen Gerüchen entgegenzuwirken. Aufgrund ihrer hohen Geruchsschwelle sind Konzentrationen von bis zu 1000 ppm üblich. Beim Menschen wurde über eine Sensibilisierung der Haut berichtet, und in einigen Studien an Ratten wurden bei Konzentrationen von über 10.000 ppm Schäden an Leber, Nieren und Milz festgestellt. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass diese Substanzen Enzyme inhibieren können, die an der Erkennung von DNA-Schäden beteiligt sind.^{25, 26}

Limonen. Die Substanz ist ein Hauptbestandteil des Zitrusaromas, das in allen Zitrusfrüchten vorkommt und hauptsächlich durch Extraktion und Destillation gewonnen wird. Da Limonen eine reaktive Verbindung ist, wird es auch bei der Synthese anderer Terpenverbindungen verwendet. Bei der Sicherheitsbewertung von Limonen wurde kein gesundheitliches Risiko im Zusammenhang mit der Aufnahme durch Nagetiere und ein NOAEL-Wert von bis zu 250-500 mg/kg/d festgestellt.²⁷ Die Inhalation niedriger Konzentrationen führte zu keinen Anzeichen von Reizungen oder Auswirkungen auf das Zentralnervensystem (ZNS), obwohl gezeigt wurde, dass sich Limonen im Fettgewebe anreichern kann.²⁸ Zudem können Limonen und Linalool unter wässrigen Bedingungen oxidieren und ihre Produkte allergische Reaktionen und eine Sensibilisierung der Haut hervorrufen.²⁹

Maltol und Ethylmaltol. Beide Verbindungen sind gängige Aromastoffe, die in Karamell, Zuckerwatte und anderen karamellisierten Produkten enthalten sind. Sie sind auch im Aroma

von frisch gebackenem Brot enthalten und werden daher als Geschmacksverstärker in Broten und anderen Backwaren verwendet. Maltole werden häufig in E-Liquids in Konzentrationen von bis zu 5 % oder mehr verwendet und verleihen ihnen einen unverwechselbaren süßen Zuckerwattegeschmack.³⁰ Ethylmaltol ist weniger toxisch als Maltol, das bei Ratten in einer Konzentration von über 1000 mg/kg/Tag Wachstumshemmung und Nierenschäden verursachte.³¹

Menthol. Menthol ist ein reichhaltiges Aroma, das ein charakteristisches kühlendes Gefühl vermittelt. In der deutschen Tabakerzeugnisverordnung ist Menthol bereits verboten (Anlage 1 zur TabakerzV). Es stellt einen multifunktionalen Zusatzstoff dar. Es ist bekannt, dass Menthol auch antibakteriell, betäubend und reizlindernd wirkt und ein Agonist der Opioidrezeptoren darstellt.³² Es wird in Hustenmitteln eingesetzt, um das Gefühl des Luftstroms zu verstärken und den Atemfluss zu hemmen. Dadurch erhöht es die Lungenexposition gegenüber Nikotin und anderen Inhaltstoffen des E-Liquid-Aerosols.¹⁹ Die kühlende Wirkung ist weitgehend auf seine Fähigkeit zurückzuführen, die TRPM8-Rezeptoren zu aktivieren, die für das kühlende Gefühl verantwortlich sind.³³ Es wird auf natürliche Weise aus der Wilden Minze (*Mentha arvensis*), der Pfefferminze und anderen Minzarten gewonnen. Menthol ist dafür bekannt, dass es die Haut oder Schleimhäute nur sehr wenig reizt; daher wird es in sehr hohen Konzentrationen verwendet. Allerdings ruft eine kontinuierliche Exposition gegenüber hohen Mentholkonzentrationen bei Mäusen schwere systemische Symptome hervor. Diese sind auf Wechselwirkungen mit TRPM8-Rezeptoren zurückzuführen. TRPM8-Rezeptoren wirken als Kalziumionenkanäle nicht nur im Riechkolben, sondern auch in anderen Organen des Körpers.^{23, 34, 35}

Die Tabelle 1 listet Konzentrationen ausgesuchter Aromasubstanzen in unterschiedlichen Produktkategorien sowie in E-Liquids aus verschiedenen Ländern auf. Auffällig ist, dass die verwendeten Konzentrationen in E-Liquids sehr hoch sein können.

Tabelle 1: Ausgesuchte Aromasubstanzen mit Konzentrationen wie sie in unverarbeiteten Produkten natürlichen Ursprungs, in verarbeiteten Lebensmitteln, in pharmazeutischen und kosmetischen Produkten sowie in E-Liquids in unterschiedlichen Ländern vorkommen (Angaben in mg/l).

Aromasubstanz	Gehalt in natürlichen Produkten ¹⁴	Gehalt in verarbeiteten Lebensmitteln ¹⁴	Gehalt in pharmazeutischen und kosmetischen Produkten ¹⁴	Gehalt in E-Liquids aus den USA, England, China und Nigeria ¹⁴	Gehalt in E-Liquids ermittelt in den Niederlanden und in Griechenland ⁴⁵	Gehalt in E-Liquids ermittelt bei Messungen am CVUA Sigmaringen ⁵⁷
Ethylbutyrat	0,3 - 2	0,002 – 0,7	-	300 - 1.100	320 - 360	
Ethylacetat	0,01 - 0,6	500 - 100	< 150	71.00	110 - 130	
Ethylmaltol	0	1 - 142	5.000	1.190 - 61.230	590 - 1000	
Vanillin	0,2 - 0,6	60 - 500	10 - 10.500	33.000	700 - 800	
Ethylvanillin	0	50	16.090	5.400	680 - 870	
Menthol	-	< 6.000	800 - 4.500	57.000	1.800	
Cinnamaldehyd	0,01 - 31.500	122 - 311	200 - 400	500 - 145.000	200	3,2 - 87
Benzaldehyd	0,02 - 2	2,0 - 4,0	1 - 5.000	21.000	33	
Limonen	0,3 - 67	20 - 278	1 - 10	779 - 106.479	330	1,6 - 953

Wenn auf die gesundheitliche Bedenklichkeit von Aromastoffen in E-Liquids und deren Toxizität verwiesen wird, müssen die dabei tatsächlich auftretenden Konzentrationen beachtet

werden. Zum Beispiel berichten Vardavas et al., dass mehrere laut GHS-Klassifizierung atemwegsreizende Stoffe in E-Liquids verwendet werden, die ebenfalls Reizungen der Haut und der Augen verursachen sowie Allergien auslösen können.³⁶ Farsalinos und Lagoumintzis haben anhand der berichteten Konzentrationen für die Aromasubstanzen Berechnungen basierend auf den Einstufungskriterien der europäischen Verordnung für Einstufung und Kennzeichnung (CLP) durchgeführt.³⁷ Dabei wurde nur für eine Substanz, Methylcyclopentenolon, eine Konzentration gefunden, die eine Einstufung des E-Liquids notwendig macht. Alle anderen berichteten Aromasubstanzen wurden deutlich unterhalb der einstufigsrelevanten Konzentration eingesetzt.

Laut der deutschen Tabakerzeugnisverordnung dürfen dem E-Liquid keine Stoffe zugesetzt werden, die in unverbrannter Form krebserzeugende, erbgutverändernde oder fruchtbarkeitsgefährdende Eigenschaften haben und die in erhitzter oder nicht erhitzter Form ein gesundheitliches Risiko für die menschliche Gesundheit darstellen. In einer belgischen Studie wird eine Screening-Strategie beschrieben, um die Aromasubstanzen mit dem höchsten gesundheitlichen Risiko zu identifizieren.³⁸ Diese Priorisierungsstrategie verwendet eine Kombination aus analytischem Screening, *In-silico*-Tests und Literaturdaten, um mögliche genotoxische Aromastoffe in E-Liquids zu ermitteln. Im Rahmen einer Untersuchung von 129 E-Liquids, die in Belgien erhältlich sind, wurden fünf genotoxische Aromasubstanzen identifiziert. Ihr Vorhandensein in den E-Liquids wurde durch GC-MS-Messungen unter Verwendung von Referenzlösungen bestätigt.

Für Estragol, Safrol, 2-Furylmethylketon, 2,5-Dimethyl-4-hydroxyl-3(2*H*)-furanon und Transhexanal existieren Hinweise auf *In-vivo*-Genotoxizität. Safrol als Bestandteil von Sassafrasöl, Sassafrasblättern, Sassafrasrinde und Estragol dürfen in Deutschland laut TabakerzV Anlage 2 daher nicht in E-Liquids eingesetzt werden.

2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanon wurde bereits von der EFSA bewertet und als genotoxisch eingestuft. Die Substanz wird verwendet, um Lebensmitteln ein Erdbeeraroma zu verleihen. Mehrere *In-vitro*- und *In-vivo*-Genotoxizitätsstudien deuten auf die Mutagenität der Substanz hin (EFSA, 2015). Eingehende Untersuchungen zeigten, dass die beobachteten Ergebnisse auf die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies zurückzuführen sind, die durch die Anwesenheit von Metallen im Zellmedium verstärkt wird. Die daraus resultierenden DNA-Schäden werden erst beobachtet, wenn die antioxidative Kapazität der Zelle erschöpft ist. Die EFSA erklärte, dass dieser Effekt bei den geringen Mengen, die für Aromen in Lebensmitteln verwendet werden, unwahrscheinlich ist. Bisher fehlen Daten für ein entsprechendes Expositionsszenario, um eine separate Risikobewertung für die Verwendung in E-Zigaretten durchzuführen.

Für zwei Verbindungen, **trans-Hexenal** und **2-Furylmethylketon**, wurde von der EFSA eine Bewertung vorgenommen, jedoch konnte keine Schlussfolgerung bzgl. des genotoxischen Potenzials der Verbindungen gezogen werden. Weitere Daten wurden angefordert (EFSA, 2015; EFSA-Gremium für Materialien mit Lebensmittelkontakt Enzyme, Aromastoffe und Verarbeitungshilfsstoffe, 2014). 2-Furylmethylketon wird als Lebensmittelaroma und -duftstoff verwendet und kann auch in Tabak vorkommen. Die EFSA kam zu dem Schluss, dass ein genotoxisches Potenzial von Furylmethylketon nicht ausgeschlossen werden kann. Auf der Grundlage der verfügbaren experimentellen Daten ist es möglich, dass die Substanz zu DNA-Schäden führt, was möglicherweise eher Chromosomenaberrationen als Genmutationen hervorruft (EFSA, 2015). *Trans*-Hexenal wurde in E-Liquids mit einem Fruchtgeschmack nachgewiesen. Auch für diese Verbindung hat die EFSA auf Bedenken hinsichtlich der Genotoxizität hingewiesen. Die verfügbaren experimentellen Daten aus Tierversuchen zeigten jedoch keine Induktion von Genmutationen durch *trans*-Hexenal (EFSA, 2015). Allerdings wird darauf hingewiesen, dass die verfügbaren Daten nicht ausreichend sind. Daher konnte

die EFSA die Bedenken hinsichtlich der Genotoxizität nicht ausschließen und benötigt für eine abschließende Beurteilung weitere Daten.

Barhdadi et al. geben an, dass für 22 weitere Aromastoffe aus E-Liquids weder *In-vitro*- noch *In-vivo*-Daten für den Endpunkt Genotoxizität zur Verfügung standen.³⁸ Für vier der 22 Stoffe, dazu zählen 2,3-Butandion, 2,3-Pentandion, Isoleden und β -Phellandren, weisen die von den Autoren durchgeführten *In-vitro*-Tests auf Mutagenität und/oder die Induktion von Chromosomenschäden hin. Die Ergebnisse zeigen die Notwendigkeit weiterer Forschung zur Bewertung der Sicherheit von Aromastoffen in E-Zigaretten auf. Dies gilt insbesondere für Stoffe, für die derzeit keine oder unzureichende Genotoxizitätsdaten vorliegen.

Toxizität aromatisierter E-Liquids

Die Inhalation ist der wesentliche Expositionsweg für E-Liquids und ihrer Aerosole. Daher konzentrieren sich die meisten *In-vitro*-Studien auf die Untersuchung von Lungenzellen. Zur Bestimmung der Zytotoxizität einer Substanz existieren schnelle und einfache Tests (z. B. der Methyltetrazolium (MTT)-Test zur Bestimmung der metabolischen Aktivität und der Laktatdehydrogenase (LDH)-Test zum Nachweis von Zellschädigungen), um einen ersten Eindruck zur Toxizität zu erhalten.

Insbesondere E-Liquids mit Zimtgeschmack werden in der Literatur als hoch zytotoxisch beschrieben.³⁹⁻⁴¹ Eine andere Studie¹⁸ legt dagegen nahe, dass E-Liquids mit Menthol-, Kaffee- und Erdbeergeschmack im Vergleich zu anderen Geschmacksrichtungen die höchste Zytotoxizität aufweisen. Zimtaromen enthalten in der Regel Zimtaldehyd, das für sein Reizpotenzial bekannt ist.⁴² Dies ist von Bedeutung für die Risikobewertung, da Zimt zusammen mit Menthol, Vanillin und anderen Aromen als gängiger Zusatzstoff von E-Liquids identifiziert wurde.⁴³⁻⁴⁵ Obwohl sich die Inhalation bestimmter Aromastoffe wie Diacetyl als toxisch für die Lunge erwiesen hat, ist die Abschätzung des toxischen Potenzials der einzelnen E-Liquids und ihrer Aromen aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung und möglicher thermischer Abbauprozesse nicht einfach.⁴³ Die bestehende Unsicherheit wird durch fünf Studien unterstrichen, in denen Zellkulturen verschiedenen E-Liquids ausgesetzt wurden. In zwei Studien wurde eine verringerte Zelllebensfähigkeit (Zellviabilität) gezeigt^{46, 47}, in zwei weiteren dagegen eine unveränderte.^{48, 49} Lerner et al. kamen zu nicht eindeutigen Ergebnissen hinsichtlich der Zelllebensfähigkeit, die sich abhängig von der Dichte der Zellpopulation zeigte.¹⁵

Der Einfluss von Nikotin auf die Zytotoxizität der E-Liquids wurde ebenfalls untersucht, es wurden jedoch bislang keine schlüssigen Ergebnisse erhalten. Leigh et al. stellten fest, dass E-Liquids mit Erdbeer-, Menthol- und Kaffeegeschmack mit einer Konzentration von 24 mg/mL Nikotin die Lebensfähigkeit und die Stoffwechselaktivität von Zellkulturen verringerten.¹⁸ Lerner et al. und Bahl et al. stellten keine *In-vitro*-Zytotoxizität nach Exposition gegenüber E-Liquids mit unterschiedlichen Nikotinkonzentrationen fest, wobei die höchste Konzentration bei 24 mg/mL lag.^{15, 39}

Die Barrierefunktion der Lunge wird durch zelluläre Grenzstrukturen, den so genannten „Tight Junctions“, gewährleistet. Störungen dieser Barrierefunktionen können Entzündungsprozesse begünstigen, da der Ablauf biochemischer Prozesse und die Signalweiterleitung negativ beeinflusst werden. Daher bietet auch die Untersuchung der Integrität der Epithel- und Endothelbarriere eine Möglichkeit, den Einfluss von Aromen auf die *In-vitro*-Toxizität von E-Liquids zu bestimmen. Nikotinhaltige E-Liquids sowie solche mit Zimt- und Buttergeschmack verringerten in experimentellen Studien die Integrität der Tight Junctions.^{41, 50} Für nikotinhaltige E-Liquids mit Tabakgeschmack konnten Moses und Kolleginnen und Kollegen hingegen keine Störung der Integrität der Tight Junctions feststellen.⁴⁹ Nur sehr wenige Studien haben die an der Toxizität von E-Liquids beteiligten Signalwege untersucht. Noel und

Moses beschreiben veränderte Genexpressionsprofile im Zusammenhang mit Entzündungen, oxidativem Stress, Stoffwechsel und der Funktion von Flimmerzellen nach Exposition gegenüber E-Zigaretten-Aerosolen. Untersucht wurden E-Liquids mit verschiedenen Geschmacksrichtungen, wie Menthol, Tabak, Butter und Zimt, mit Nikotinkonzentrationen von 0 bis 37,1 mg/mL.^{41, 49} Moses et al. beschreiben in einer Microarray-Analyse mehr als 500 – in Abhängigkeit von der Expositionsgruppe (E-Zigaretten, konventionelle Tabakzigaretten und Luftkontrolle) – unterschiedlich exprimierter Gene. Beide Forschergruppen wiesen nach, dass in Zellen insbesondere oxidative Stresswege durch E-Zigaretten mit Zimt- und Tabakgeschmack induziert werden.

Insgesamt sind die Ergebnisse der verschiedenen *In-vitro*-Studien zur Toxizität von E-Liquids aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns, Geschmacksrichtungen, Geräteeinstellungen, Nikotingehalte sowie abweichender Zellkulturtechniken nicht schlüssig. In einer Reihe von Veröffentlichungen ist beschrieben, dass neben dem Geschmack verschiedene weitere Faktoren für die Toxizität von E-Liquids/E-Zigaretten ausschlaggebend sind, wie zum Beispiel die Geräteeinstellungen und die Zelltypen oder Zellkulturmodelle.^{18, 30, 39-41, 51-53} Es existiert ein standardisiertes Abrauchverfahren für die Erzeugung von Aerosolen durch E-Zigaretten (CORESTA 81). Allerdings ist die Expositionsmethode, d. h. wie die Aerosole auf Zellkulturmodelle geleitet werden, nicht standardisiert. Ebenfalls nicht standardisiert sind Art und Handhabung der verwendeten Geräte. Von Forscherteams wurden verschiedene Expositionsszenarien entwickelt. Am realistischsten ist die Exposition der Zellen unter Air-Liquid-Interface (ALI)-Bedingungen, in dem das entsprechende Aerosol direkt auf ein Lungenzellmodell geleitet wird. Allerdings ist die Zuführung der Aerosole zu den Zellen technisch aufwändig.

Alternativ können E-Liquid-Aerosole durch ein Zellkulturmedium geleitet und diese so behandelten Medien dann für die Exposition verwendet werden. Nachteilig ist hier, dass hauptsächlich wasserlösliche Verbindungen in den Medien zurückgehalten werden und andere Verbindungen, wie z. B. flüchtige Stoffe, nicht erfasst werden. Soll nur die Toxizität des Liquids und nicht die des Aerosols untersucht werden, kann man das Liquid verdünnt zum Zellmedium geben. Der Nachteil hieran ist, dass thermodynamische Prozesse wie bei der Erhitzung in einer E-Zigarette ausgeschlossen sind.

Ganguly et al. und Scheffler et al. haben in ihren Studien gezeigt, dass die Wahl des Zellmodells das Ergebnis beeinflusst. Aufgrund dessen sind Veröffentlichungen, die mit verschiedenen Zellmodellen und Zelllinien durchgeführt wurden, nicht vergleichbar.^{52, 54} Ähnliche Beobachtungen wurden von Behar et al. beschrieben.⁴³ Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit der Entwicklung standardisierter Lungenzellmodelle.

Auch die Tabakindustrie führt Toxizitätsstudien durch. In der Studie von Wieczorek et al. wurden Zellen mit unterschiedlich aromatisierten E-Liquids und E-Liquid-Aerosolen exponiert.⁵³ Sie untersuchten Zytotoxizität, Mutagenität und Genotoxizität gemäß den OECD-Richtlinien. Nach der Behandlung mit E-Liquids oder E-Liquid-Aerosolen wurde keine mutagene oder genotoxische Reaktion beobachtet. Die Zytotoxizität war vom jeweiligen Aroma und der Nikotinkonzentration abhängig. Sie war erwartungsgemäß geringer als bei der Exposition gegenüber Zigarettenrauch. Die durch die Tabakhersteller durchgeführten Studien kommen zu dem Ergebnis, dass die schädlichen Auswirkungen auf die Zellen bei der Exposition gegenüber E-Zigaretten im Vergleich zu Zigaretten weniger ausgeprägt sind (23, 24).^{55, 56}

Experimentelle Arbeiten: Untersuchungen am BfR

In Zusammenarbeit mit dem Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt in Sigmaringen hat das BfR in 60 verschiedenen E-Liquids Aromastoffe untersucht. Insgesamt wurden 17

ausgesuchte Aromen quantifiziert. Es wurden Konzentrationen unterhalb der Kennzeichnungspflicht detektiert.⁵⁷

Das BfR forscht an der Entwicklung von *in-vitro*-Methoden zur toxikologischen Charakterisierung von Aromen in E-Liquids.

Weitere Informationen zu dem Thema finden Sie unter:

Gesundheitliche Bewertung von Tabakerzeugnissen

https://www.bfr.bund.de/de/gesundheitliche_bewertung_von_tabakerzeugnissen-54513.html

Zusatzstoffe in Tabak und E-Zigaretten: Hinweise auf gesundheitliche Beeinträchtigungen Stellungnahme des BfR Nr. 021/2021 vom 2. Juli 2021

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/zusatzstoffe-in-tabak-und-e-zigaretten-hinweise-auf-gesund-heitliche-beeintraechtigungen.pdf>



„Stellungnahmen-App“ des BfR

Referenzen:

1. Zhu, S. H.; Sun, J. Y.; Bonnevie, E.; Cummins, S. E.; Gamst, A.; Yin, L.; Lee, M., Four hundred and sixty brands of e-cigarettes and counting: implications for product regulation. *Tob Control* **2014**, *23 Suppl 3*, iii3-9.
2. Soussy, S.; El-Hellani, A.; Baalbaki, R.; Salman, R.; Shihadeh, A.; Saliba, N. A., Detection of 5-hydroxymethylfurfural and furfural in the aerosol of electronic cigarettes. *Tob Control* **2016**, *25* (Suppl 2), ii88-ii93.
3. Vreeke, S.; Peyton, D. H.; Strongin, R. M., Triacetin Enhances Levels of Acrolein, Formaldehyde Hemiacetals, and Acetaldehyde in Electronic Cigarette Aerosols. *ACS Omega* **2018**, *3* (7), 7165-7170.
4. BfR Süßstoff Sucralose: Beim Erhitzen von Lebensmitteln können gesundheitsschädliche Verbindungen entstehen. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/suessstoff-sucralose-beim-erhitzen-von-lebensmitteln-koennen-gesundheitsschaedliche-verbindungen-entstehen.pdf>.
5. Krusemann, E. J. Z.; Boesveldt, S.; de Graaf, K.; Talhout, R., An E-Liquid Flavor Wheel: A Shared Vocabulary Based on Systematically Reviewing E-Liquid Flavor Classifications in Literature. *Nicotine Tob Res* **2019**, *21* (10), 1310-1319.
6. Havermans, A.; Krusemann, E. J. Z.; Pennings, J.; de Graaf, K.; Boesveldt, S.; Talhout, R., Nearly 20 000 e-liquids and 250 unique flavour descriptions: an overview of the Dutch market based on information from manufacturers. *Tob Control* **2021**, *30* (1), 57-62.
7. Krusemann, E. J. Z.; Havermans, A.; Pennings, J. L. A.; de Graaf, K.; Boesveldt, S.; Talhout, R., Comprehensive overview of common e-liquid ingredients and how they can be used to predict an e-liquid's flavour category. *Tob Control* **2021**, *30* (2), 185-191.

8. Dawkins, L.; Turner, J.; Roberts, A.; Soar, K., 'Vaping' profiles and preferences: an online survey of electronic cigarette users. *Addiction* **2013**, *108* (6), 1115-25.
9. Farsalinos, K. E.; Romagna, G.; Tsiapras, D.; Kyrzopoulos, S.; Spyrou, A.; Voudris, V., Impact of flavour variability on electronic cigarette use experience: an internet survey. *Int J Environ Res Public Health* **2013**, *10* (12), 7272-82.
10. Attitudes of Europeans towards tobacco and electronic cigarettes. <https://ec.europa.eu/commfrontoffice/publicopinion>.
11. Nair, V.; Tran, M.; Behar, R. Z.; Zhai, S.; Cui, X.; Phandthong, R.; Wang, Y.; Pan, S.; Luo, W.; Pankow, J. F.; Volz, D. C.; Talbot, P., Menthol in electronic cigarettes: A contributor to respiratory disease? *Toxicol Appl Pharmacol* **2020**, *407*, 115238.
12. Ha, M. A.; Smith, G. J.; Cichocki, J. A.; Fan, L.; Liu, Y. S.; Caceres, A. I.; Jordt, S. E.; Morris, J. B., Menthol attenuates respiratory irritation and elevates blood cotinine in cigarette smoke exposed mice. *PLoS One* **2015**, *10* (2), e0117128.
13. Willis, D. N.; Liu, B.; Ha, M. A.; Jordt, S. E.; Morris, J. B., Menthol attenuates respiratory irritation responses to multiple cigarette smoke irritants. *FASEB J* **2011**, *25* (12), 4434-44.
14. Dinu, V.; Kilic, A.; Wang, Q.; Ayed, C.; Fadel, A.; Harding, S. E.; Yakubov, G. E.; Fisk, I. D., Policy, toxicology and physicochemical considerations on the inhalation of high concentrations of food flavour. *NPJ Sci Food* **2020**, *4* (1), 15.
15. Lerner, C. A.; Sundar, I. K.; Yao, H.; Gerloff, J.; Ossip, D. J.; McIntosh, S.; Robinson, R.; Rahman, I., 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* **2015**, *10* (2), e0116732.
16. Muthumalage, T.; Prinz, M.; Ansah, K. O.; Gerloff, J.; Sundar, I. K.; Rahman, I., Inflammatory and Oxidative Responses Induced by Exposure to Commonly Used e-Cigarette Flavoring Chemicals and Flavored e-Liquids without Nicotine. *Front Physiol* **2017**, *8*, 1130.
17. Gerloff, J.; Sundar, I. K.; Freter, R.; Sekera, E. R.; Friedman, A. E.; Robinson, R.; Pagano, T.; Rahman, I., Inflammatory Response and Barrier Dysfunction by Different e-Cigarette Flavoring Chemicals Identified by Gas Chromatography-Mass Spectrometry in e-Liquids and e-Vapors on Human Lung Epithelial Cells and Fibroblasts. *Appl In Vitro Toxicol* **2017**, *3* (1), 28-40.
18. Leigh, N. J.; Lawton, R. I.; Hershberger, P. A.; Goniewicz, M. L., Flavourings significantly affect inhalation toxicity of aerosol generated from electronic nicotine delivery systems (ENDS). *Tob Control* **2016**, *25* (Suppl 2), ii81-ii87.
19. (SCENIHR), S. C. o. E. a. N. I. H. R. Final Opinion on Additives used in tobacco products (Opinion 1) Tobacco Additives I https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_051.pdf.
20. Andersen, A., Final report on the safety assessment of benzaldehyde. *Int J Toxicol* **2006**, *25* Suppl 1, 11-27.
21. Friedman, M.; Kozukue, N.; Harden, L. A., Cinnamaldehyde content in foods determined by gas chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem* **2000**, *48* (11), 5702-9.
22. Bandell, M.; Story, G. M.; Hwang, S. W.; Viswanath, V.; Eid, S. R.; Petrus, M. J.; Earley, T. J.; Patapoutian, A., Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. *Neuron* **2004**, *41* (6), 849-57.
23. Erythropel, H. C.; Jabba, S. V.; DeWinter, T. M.; Mendizabal, M.; Anastas, P. T.; Jordt, S. E.; Zimmerman, J. B., Formation of flavorant-propylene Glycol Adducts With Novel Toxicological Properties in Chemically Unstable E-Cigarette Liquids. *Nicotine Tob Res* **2019**, *21* (9), 1248-1258.
24. Clapp, P. W.; Lavrich, K. S.; van Heusden, C. A.; Lazarowski, E. R.; Carson, J. L.; Jaspers, I., Cinnamaldehyde in flavored e-cigarette liquids temporarily suppresses bronchial

- epithelial cell ciliary motility by dysregulation of mitochondrial function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **2019**, *316* (3), L470-L486.
25. Gustafson, D. L.; Franz, H. R.; Ueno, A. M.; Smith, C. J.; Doolittle, D. J.; Waldren, C. A., Vanillin (3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde) inhibits mutation induced by hydrogen peroxide, N-methyl-N-nitrosoguanidine and mitomycin C but not (137)Cs gamma-radiation at the CD59 locus in human-hamster hybrid A(L) cells. *Mutagenesis* **2000**, *15* (3), 207-13.
26. Durant, S.; Karran, P., Vanillins--a novel family of DNA-PK inhibitors. *Nucleic Acids Res* **2003**, *31* (19), 5501-12.
27. Ravichandran, C.; Badgujar, P. C.; Gundev, P.; Upadhyay, A., Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive. *Food Chem Toxicol* **2018**, *120*, 668-680.
28. Miller, J. A.; Hakim, I. A.; Chew, W.; Thompson, P.; Thomson, C. A.; Chow, H. H., Adipose tissue accumulation of d-limonene with the consumption of a lemonade preparation rich in d-limonene content. *Nutr Cancer* **2010**, *62* (6), 783-8.
29. Brared Christensson, J.; Karlberg, A. T.; Andersen, K. E.; Bruze, M.; Johansen, J. D.; Garcia-Bravo, B.; Gimenez Arnau, A.; Goh, C. L.; Nixon, R.; White, I. R., Oxidized limonene and oxidized linalool - concomitant contact allergy to common fragrance terpenes. *Contact Dermatitis* **2016**, *74* (5), 273-80.
30. Omaiye, E. E.; McWhirter, K. J.; Luo, W.; Tierney, P. A.; Pankow, J. F.; Talbot, P., High concentrations of flavor chemicals are present in electronic cigarette refill fluids. *Sci Rep* **2019**, *9* (1), 2468.
31. Gralla, E. J.; Stebbins, R. B.; Coleman, G. L.; Delahunt, C. S., Toxicity studies with ethyl maltol. *Toxicol Appl Pharmacol* **1969**, *15* (3), 604-13.
32. Kamatou, G. P.; Vermaak, I.; Viljoen, A. M.; Lawrence, B. M., Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry* **2013**, *96*, 15-25.
33. McKemy, D. D., TRPM8: The Cold and Menthol Receptor. In *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades*, Liedtke, W. B.; Heller, S., Eds. Boca Raton (FL), 2007.
34. Di Pizio, A.; Behrens, M.; Krautwurst, D., Beyond the Flavour: The Potential Druggability of Chemosensory G Protein-Coupled Receptors. *Int J Mol Sci* **2019**, *20* (6).
35. Clapp, P. W.; Jaspers, I., Electronic Cigarettes: Their Constituents and Potential Links to Asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* **2017**, *17* (11), 79.
36. Vardavas, C.; Girvalaki, C.; Vardavas, A.; Papadakis, S.; Tzatzarakis, M.; Behrakis, P.; Tsatsakis, A., Respiratory irritants in e-cigarette refill liquids across nine European countries: a threat to respiratory health? *Eur Respir J* **2017**, *50* (6).
37. Farsalinos, K.; Lagoumintzis, G., Toxicity classification of e-cigarette flavouring compounds based on European Union regulation: analysis of findings from a recent study. *Harm Reduct J* **2019**, *16* (1), 48.
38. Barhdadi, S.; Mertens, B.; Van Bossuyt, M.; Van De Maele, J.; Anthonissen, R.; Canfyn, M.; Courselle, P.; Rogiers, V.; Deconinck, E.; Vanhaecke, T., Identification of flavouring substances of genotoxic concern present in e-cigarette refills. *Food Chem Toxicol* **2021**, *147*, 111864.
39. Bahl, V.; Lin, S.; Xu, N.; Davis, B.; Wang, Y. H.; Talbot, P., Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reprod Toxicol* **2012**, *34* (4), 529-37.
40. Behar, R. Z.; Wang, Y.; Talbot, P., Comparing the cytotoxicity of electronic cigarette fluids, aerosols and solvents. *Tob Control* **2018**, *27* (3), 325-333.
41. Noel, A.; Hossain, E.; Perveen, Z.; Zaman, H.; Penn, A. L., Sub-ohm vaping increases the levels of carbonyls, is cytotoxic, and alters gene expression in human bronchial epithelial cells exposed at the air-liquid interface. *Respir Res* **2020**, *21* (1), 305.
42. Information NCfB. PubChem Compound Summary for CID 637511, Cinnamaldehyde. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cinnamaldehyde>.

43. Behar, R. Z.; Luo, W.; McWhirter, K. J.; Pankow, J. F.; Talbot, P., Analytical and toxicological evaluation of flavor chemicals in electronic cigarette refill fluids. *Sci Rep* **2018**, *8* (1), 8288.
44. Behar, R. Z.; Luo, W.; Lin, S. C.; Wang, Y.; Valle, J.; Pankow, J. F.; Talbot, P., Distribution, quantification and toxicity of cinnamaldehyde in electronic cigarette refill fluids and aerosols. *Tob Control* **2016**, *25* (Suppl 2), ii94-ii102.
45. Scientific Committee on Health, E. a. E. R. S. Opinion on electronic cigarettes. https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific_committees/scheer/docs/scheer_o_017.pdf.
46. Vasanthi Bathrinathan, P.; Brown, J. E. P.; Marshall, L. J.; Leslie, L. J., An investigation into E-cigarette cytotoxicity in-vitro using a novel 3D differentiated co-culture model of human airways. *Toxicol In Vitro* **2018**, *52*, 255-264.
47. Otreba, M.; Kosmider, L.; Knysak, J.; Warncke, J. D.; Sobczak, A., E-cigarettes: voltage- and concentration-dependent loss in human lung adenocarcinoma viability. *J Appl Toxicol* **2018**, *38* (8), 1135-1143.
48. Leigh, N. J.; Tran, P. L.; O'Connor, R. J.; Goniewicz, M. L., Cytotoxic effects of heated tobacco products (HTP) on human bronchial epithelial cells. *Tob Control* **2018**, *27* (Suppl 1), s26-s29.
49. Moses, E.; Wang, T.; Corbett, S.; Jackson, G. R.; Drizik, E.; Perdomo, C.; Perdomo, C.; Kleerup, E.; Brooks, D.; O'Connor, G.; Dubinett, S.; Hayden, P.; Lenburg, M. E.; Spira, A., Molecular Impact of Electronic Cigarette Aerosol Exposure in Human Bronchial Epithelium. *Toxicol Sci* **2017**, *155* (1), 248-257.
50. Schweitzer, K. S.; Chen, S. X.; Law, S.; Van Demark, M.; Poirier, C.; Justice, M. J.; Hubbard, W. C.; Kim, E. S.; Lai, X.; Wang, M.; Kranz, W. D.; Carroll, C. J.; Ray, B. D.; Bittman, R.; Goodpaster, J.; Petrache, I., Endothelial disruptive proinflammatory effects of nicotine and e-cigarette vapor exposures. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **2015**, *309* (2), L175-87.
51. Bengalli, R.; Ferri, E.; Labra, M.; Mantecca, P., Lung Toxicity of Condensed Aerosol from E-CIG Liquids: Influence of the Flavor and the In Vitro Model Used. *Int J Environ Res Public Health* **2017**, *14* (10).
52. Scheffler, S.; Dieken, H.; Krischenowski, O.; Aufderheide, M., Cytotoxic Evaluation of e-Liquid Aerosol using Different Lung-Derived Cell Models. *Int J Environ Res Public Health* **2015**, *12* (10), 12466-74.
53. Wiczorek, R.; Phillips, G.; Czekala, L.; Trelles Sticken, E.; O'Connell, G.; Simms, L.; Rudd, K.; Stevenson, M.; Walele, T., A comparative in vitro toxicity assessment of electronic vaping product e-liquids and aerosols with tobacco cigarette smoke. *Toxicol In Vitro* **2020**, *66*, 104866.
54. Ganguly, K.; Nordstrom, A.; Thimraj, T. A.; Rahman, M.; Ramstrom, M.; Sompal, S. I.; Lin, E. Z.; O'Brien, F.; Koelmel, J.; Ernstgard, L.; Johanson, G.; Pollitt, K. J. G.; Palmberg, L.; Upadhyay, S., Addressing the challenges of E-cigarette safety profiling by assessment of pulmonary toxicological response in bronchial and alveolar mucosa models. *Sci Rep* **2020**, *10* (1), 20460.
55. Bozhilova, S.; Baxter, A.; Bishop, E.; Breheny, D.; Thorne, D.; Hodges, P.; Gaca, M., Optimization of aqueous aerosol extract (AqE) generation from e-cigarettes and tobacco heating products for in vitro cytotoxicity testing. *Toxicol Lett* **2020**, *335*, 51-63.
56. Romagna, G.; Alliffranchini, E.; Bocchietto, E.; Todeschi, S.; Esposito, M.; Farsalinos, K. E., Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): comparison with tobacco cigarette smoke extract. *Inhal Toxicol* **2013**, *25* (6), 354-61.
57. Sigmaringen, C. E-Liquids – was ist drin? https://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=4&ID=3223&Thema_ID=14&lang=DE.

58. Park, J.; Baek, S. H., Combination Therapy with Cinnamaldehyde and Hyperthermia Induces Apoptosis of A549 Non-Small Cell Lung Carcinoma Cells via Regulation of Reactive Oxygen Species and Mitogen-Activated Protein Kinase Family. *Int J Mol Sci* **2020**, *21* (17).

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.