

Exponering för perfluorkarboner hos kvinnor med högt fiskintag

Marika Berglund¹⁾, Katrin Holmström²⁾, Karolin Ask¹⁾, Kierstin Petersson-Grawé³⁾, Jana Pickova⁴⁾, Ulf Järnberg²⁾

¹⁾ Institutet för miljömedicin, Karolinska Institutet, Stockholm

²⁾ Institutet för tillämpad miljöforskning, Stockholms universitet, Stockholm

³⁾ Forsknings- och utvecklingsavdelningen, Livsmedelsverket, Uppsala

⁴⁾ Institutionen för Livsmedelsvetenskap, SLU, Uppsala

Syfte

Den övergripande målsättningen med den hälsorelaterade miljöövervakningen (HÄMI) är att följa exponering för miljöföroreningar över tid, speciellt hos känsliga och riskutsatta grupper, och att så långt som möjligt identifiera de huvudsakliga exponeringskällorna för att möjliggöra en effektiv exponeringsreduktion. Det specifika syftet med föreliggande projekt var att belysa exponeringsnivåer för perfluorkarboner, framförallt PFOS (perfluoroktansulfonat) och PFOA (perfluoroktansyra), hos kvinnor i barnafödande ålder med måttlig till hög fiskkonsumtion. PFOS/PFOA-halter i blod utvärderades i relation till fiskintag (sort och mängd) samt fettsyresammansättning i blod.

Detta är den första undersökningen av perfluorkarboner hos kvinnor med måttlig till hög fiskkonsumtion (inom den hälsorelaterade miljöövervakningen). Undersökningen har utförts i samarbete mellan Institutet för Miljömedicin (IMM), Karolinska Institutet, Institutet för tillämpad miljöforskning, Stockholms Universitet, Statens Lantbruksuniversitet, Uppsala samt Livsmedelsverket, Uppsala, på uppdrag av Naturvårdsverket.

Vi har tidigare rapporterat kvicksilverhalterna i dessa prover (Ask et al, 2002. Kontrakt 215 0105. Rapport till NV). Under hösten 2004 kommer även halterna av persistenta organiska föreningar att redovisas i en separat rapport (Kontrakt 215 0311).

Bakgrund

Perfluorokarboner kan förekomma i en rad olika former. Perfluoralkylsulfonsyror och perfluoralkylkarboxylsyror innefattar ett flertal isomera föreningar med mellan 4 och 12 kol i strukturen. Denna undersökning handlar om de två hittills mest använda och uppmärksammade varianterna, perfluoroktansyra (PFOA) och perfluoroktan sulfonsyra (PFOS). Perfluorkarboner har producerats sedan 60-talet och använts i en mängd olika sammanhang. Trots detta är det först de senaste 5 åren dessa ämnen har uppmärksammats. Idag pågår viss forskning men fortfarande finns stora kunskapsluckor att fylla.

På grund av de många användningsområdena för perfluoralkylsyror, som derivat och i polymer form, är användningen svår att kartlägga. Några användningsområden som identifierats i Sverige är ytbehandling, industriell textil- och läderbehandling,

skumsläckningsmedel samt konsumentprodukter för textil och lädervård. Användningen av PFOS-baserade produkter har troligen minskat kraftigt sedan 2002 efter att den största tillverkaren 3M frivilligt dragit ned produktionen.

I Sverige finns ingen tillverkning av PFOS eller PFOA. De halter som uppmätts i Sverige härrör istället från industriell användning, läckage från produkter eller från långväga transport. Perfluorkarboner kan läcka ut till miljön från soptippar, reningsverk eller från direkt användning av till exempel släckningsmedel innehållande perfluorerade ämnen.

Studier visar att mer komplexa perfluorerade ämnen kan brytas ned till PFOS och PFOA. Kolfluor-bindningen är mycket stark och nedbrytningsstudier av dessa två ämnen har inte kunnat visa någon nedbrytning, varken biologiskt eller via direkt fotolys. PFOS och PFOA är således mycket persistenta och de bioackumulerar och biomagnifierar. PFOS och PFOA har påvisats både i biota och i abiotiska prover som ytvatten, sediment, slam och luftprover. Substanserna har rapporterats från större delen av norra halvklotet, också från Arktis. Högst halter har uppmätts i urbana områden, särskilt där produktion eller industriell användning av dessa ämnen pågått. Halterna varierar mellan arter, matriser och platser men är för biota generellt högst i toppkonsumenter, och för abiota i slam. Halterna ligger mellan några få ng/g, ända upp till ug/g.

Exponeringskällor och -vägar för dessa ämnen är relativt okända. I biota återfinns de högsta halterna PFOS i fiskätande djurarter högt upp i näringskedjan, såsom sillgrissla, säl och utter, vilket ger skäl att tro att fisk som föda är en viktig exponeringskälla för djur. Huruvida fisk även är en viktig exponeringskälla för människor är inte känt. PFOS har tidigare påvisats i fiskmuskel från svenska vatten i halter mellan 1-50 ng/g färskvikt (NV Rapport.....). I dessa studier har dock ingen PFOA kunnat påvisas i detekterbara mängder. Människor kan även exponeras genom arbete med kemikalierna eller genom användning av konsumentprodukter innehållande PFOS och PFOA eller precursorsubstanser till dessa.

PFOS och PFOA har mycket lång halveringstid i människa (>4 år) och genomgår s.k. enterohepatisk cirkulation. I exponeringsförsök med gnagare och primater har högst halter uppmätts i lever och blod efter oral exponering. Perfluoralkylsyror stör cellers fettsyrametabolism och ger i höga doser viktminskning som tidigt symptom. PFOS har konstaterats vara reproduktionstoxiskt i exponeringsförsök med gnagare och primater. Både PFOS och PFOA misstänks vara levercarcinogener på grund av att de är peroxisomproliferatorer samt stör intercellulär kommunikation.

Metodik

Studiedesign och provtagning

Kvinnor med hög fiskkonsumtion (=äter fisk flera gånger i veckan), rekryterades från tre områden:

- 1 Nordöstra Sverige: Västernorrlands-, Västerbottens- och Gävleborgs län
- 2 Mellansverige: Västmanlands-, Värmlands- och Örebro län
- 3 Sydvästra Sverige: Västra Götalands- och Hallands län

Dessa områden valdes med anledning av frågeställningen rörande kvicksilverexponeringen, och att man tidigare konstaterat höga halter av kvicksilver i insjö- och/eller saltsjöfisk i dessa områden.

Försökspersonerna rekryterades via annonsering i olika tidningar såsom Ica-kuriren, LAND och lokalpress under maj-augusti 2001. Kostenkäter sändes ut till samtliga intresserade (n=194). Sammanlagt returnerades 169 (87 %) ifyllda kostenkäter och till dessa kvinnor sändes provtagningsmaterial samt information om provtagning där kvinnorna ombads gå till närmaste vårdcentral för provtagning under oktober månad.

För analys av miljökontaminanter insamlades helblod (10 ml, Venoject II 5 ml, EDTA (K2): 9,8 mg, VP-050SDK, Terumo Corporation, Leuven, Belgien) och serum (10 ml, Venoject II 5 ml, Gel+Clot Act., VP-054SAS, Terumo Corporation, Leuven, Belgien).

Kostenkäten som kvinnorna besvarade innehöll framförallt detaljerade frågor om fiskkonsumtion. Kvinnorna angav hur ofta (aldrig, 3 ggr/år, 6 ggr/år, 1-3 ggr/mån, 1 g/v, 2 ggr/v, 3-4 ggr/v, 5-6 ggr/v eller 1 g/dag eller mer) de ätit följande fiskar under det senaste året: djupfrost fisk, fiskrätter, makrill, sillkonserver, tonfisk på burk, andra fiskkonserver, salt sill, strömming, böckling, rökt sill, östersjölax, annan lax, ål, gädda, gös, lake, abborre, färsk hälleflundra, tonfisk, svärdfisk, marulk, annan färsk havsfisk, lever av torsk och lake samt skaldjur. Kvinnorna lämnade även information om fisken var köpt eller egenfångad samt om gädda, gös, lake och abborre var insjö- eller havsfångad. Konsumtionsfrekvensen summerades genom att beräkna ett genomsnittligt månadsintag. Kostenkäten innehöll också information om konsumtionsfrekvens av korv, fläskkött, nötkött, viltkött, köttfärsrätter, njure och lever, kyckling, övrig fågel samt antal ägg.

Sammanlagt har 108 kvinnor lämnat helblod och enkätdata till denna studie. Kvinnorna var mellan 19 och 56 år gamla (median 40 år). 46 kvinnor kom från Västernorrland, Västerbotten och Gävleborg (1), 38 kvinnor från Västmanland, Örebro och Värmland (2) samt 24 kvinnor från Västra Götaland och Halland (3).

Projektet är granskat och godkänt av forskningsetikkommittén vid Karolinska Institutet, Stockholm.

Analyser

PFOS och PFOA i blod

Halter av PFOS och PFOA bestämdes i blod som mått på exponering. Blodprover homogeniserades i MilliQ-vatten och perfluorosyrorna jonparsextraherades med tetrabutylammonium vid pH 10 över till MTBE. Extraktet indunstades till torrhet med kvävgas varefter en exakt volym av 500 µl metanol tillsattes. Extraktet filtrerades sedan och slutbestämning gjordes med vätskekromatografi kopplat till tandem-masspektrometri (LC/MS-MS; Hansen et al, 2001). Kvantifiering gjordes mot extrakt av blodprover spikade med tre olika koncentrationer av PFOS och PFOA före extraktion. Ett kontroll-blodprov och blankprov (MilliQ-vatten) extraherades med varje omgång blodprover. Detektionsgränsen var ca 0,5 ng/g. Analyserna utfördes vid Institutet för tillämpad miljöforskning (ITM), Stockholms Universitet.

Fettsyror i blod

Fettsyror i blod analyserades med gaskromatografi (GC, CP9001, Chrompack, Middelburg, NL) med flamjoniseringsdetektor och split injektor samt en BPX 70 kolonn (SGE, Austin, Texas), efter extraktion med kloroform (Folch et al, 1957) med viss modifikation. Fettsyror identifierades med hjälp av externa standards (GLC 68A, Nu-Chek prep inc. Elysian,

Minnesota, USA). Ingen responsfaktor användes efter jämförelse med samma standard. Duplikatprover visade på bra reproducerbarhet (max 10% variation per fettsyra). Topparnas area integrerades med Maestro 2, version 2.4 integrator (Chrompack, Middelburg, NL). Som bärargas användes kvävgas (22cm/s, flöde 30 ml/min, make-up gas helium). Analyserna utfördes vid Statens lantbruksuniversitet (SLU), Uppsala.

Kvalitetssäkring

Kontrollprover extraherades och analyserades totalt 9 gånger. Dessa uppvisade en relativ standardavvikelse av halten PFOS respektive PFOA på 7% respektive 9%, och ingen systematisk drift i uppmätt koncentration. I några omgångar fanns spår av PFOA i blankprovet, vilket har korrigerats för. Analyskvaliteten bedöms därför vara tillfredsställande.

Analyserna av fettsyror bedöms vara tillförlitliga då upprepade körningar och duplikat i alla analyssteg inte visade några avvikande resultat.

Statistiska metoder

För att beskriva sambandet mellan olika parametrar användes Spearmans rangkorrelationstest (r_s). Som gräns för statistisk signifikans valdes $p < 0,05$. Vid jämförelse av resultat mellan grupper och mellan föreliggande studie och tidigare studier användes Kruskal Wallis eller Mann-Whitney U test.

Resultat

Enkätdata

All sorts fisk (inklusive skaldjur) konsumerades i genomsnitt 17 ggr/månad (median, $n=108$, medelvärde: 20 ggr/mån, variationsbredd: 6,5-62 ggr/mån).

PFOS/PFOA i blod

PFOS- och PFOA-halter analyserades i 108 blodprover. Resultaten presenteras i tabell 1.

Tabell 1. Koncentrationer av PFOS och PFOA i blod ($\mu\text{g/l}$).

	N	Median	Medel- värde	SD	Minsta värde	Högsta värde
PFOS	108	15	18	11	3,0	67
PFOA	108	1,9	2,0	0,80	0,40	4,8

Fettsyror i blod

I tabell 2 presenteras mängden omega-3- och omega-6-fettsyror i blod (uttryckt som % av totala fettsyremängden) samt kvoten av dessa. I omega-3 serien (fleromättade fettsyror i n-3) ingår följande analyserade fettsyror: 18:3n-3, 20:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3. I omega-6 serien (n-6) ingår: 18:2n-6, 18:3n-6, 20:3n-6, 20:4n-6. Det är n-3 som främst har sitt ursprung i fiskbaserade livsmedel, då denna fettsyra främst produceras i akvatiska ekosystem.

Kvoten mellan de fleromättade fettsyrorerna n-6 och n-3 ($n-6/n-3$) ger ett relativt mått på fiskintaget, ju lägre kvoten är desto högre är fiskintaget och därmed andelen fiskfettsyror som

cirkulerar i kroppen. Denna kvot påverkas dock av flera olika faktorer som body mass index (BMI) och motion, och är därför inte ett objektiva mått på fiskkonsumtion.

Tabell 2. Fleromättade fettsyror i blod i % av totala fettsyremängden.

	N	Median	Medel- värde	SD	Minsta värde	Högsta värde
Summa n-3	101	5,0	5,2	1,7	2,4	11
Summa n-6	101	29	29	3,5	20	37
Kvoten n-6/n-3	101	5,9	6,0	1,8	2,2	10

Samband

PFOS var signifikant korrelerad med PFOA ($r_s=0,61$; $p<0,001$; Figur 1). Varken PFOS eller PFOA var korrelerade med ålder eller total fiskkonsumtion (tabell 3), men både PFOS ($r_s=0,27$; $p=0,004$) och PFOA ($r_s=0,22$; $p=0,02$) var positivt korrelerade med metylkvicksilverhalten (MeHg) i blod (Figur 2), som utgör en markör för fiskintag. MeHg i blod ökade med den totala fiskkonsumtionen (tabell 3).

Den totala fiskkonsumtionen var signifikant korrelerad med n-3 ($r_s=0,27$; $p=0,006$). Det var även MeHg i blod (Figur 2), men inte PFOS eller PFOA (tabell 3).

PFOS liksom MeHg var positivt korrelerade med intag av insjö- och havsfångad gädda, gös, abborre, lake och ål, dvs sådana fiskar som generellt innehåller högre halter av MeHg (tabell 3). Ingen korrelation detekterades mellan intag av feta fiskar (lax, sill och strömming) och PFOS, PFOA eller MeHg, dvs sådana fiskar som generellt innehåller högre halter av PCB och dioxiner (tabell 3). Både PFOS och MeHg var positivt korrelerade med intagsfrekvensen för skaldjur (tabell 3).

Något samband mellan PFOS eller PFOA och konsumtion av övriga livsmedel (korv, fläskkött, nötkött, kyckling, köttfärsrätter, ägg) kunde inte påvisas.

Tabell 3. Korrelationskoefficienter (r_s) för PFOS, PFOA och MeHg i blod (g/l) och intag av fisk totalt (gångar/mån), olika fisksorter (frekvenser) och fiskfettsyror.

	PFOS	PFOA	MeHg
Total fiskkonsumtion, ggr/mån	$r_s=0,12$ $p=0,2$	$r_s=0,02$ $p=0,8$	$r_s=0,41$ $p<0,001$
n-3 fettsyror	$r_s=-0,005$ $p=1,0$	$r_s=0,11$ $p=0,3$	$r_s=0,35$ $p<0,001$
Intag av gädda, gös, abborre, lake och ål	$r_s=0,24$ $p=0,01$	$r_s=-0,02$ $p=0,8$	$r_s=0,38$ $p<0,001$
Intag av skaldjur	$r_s=0,25$ $p=0,01$	$r_s=0,13$ $p=0,2$	$r_s=0,32$ $p<0,001$
Intag av lax, sill och strömming	$r_s=0,12$ $p=0,2$	$r_s=0,06$ $p=0,5$	$r_s=0,17$ $p=0,07$
Intag av egenfångad fisk	$r_s=0,24$ $p=0,01$	$r_s=-0,07$ $p=0,5$	$r_s=0,26$ $p=0,006$

Jämförelser mellan geografiska områden

PFOS var signifikant högre ($p=0,012$) i Mellansverige (2: Västmanlands-, Värmlands- och Örebro län) än i nordöstra Sverige (1: Västernorrlands-, Västerbottens- och Gävleborgs län). Det var ingen skillnad mellan Mellansverige och sydvästra Sverige (3: Västra Götalands- och Hallands län) eller nordöstra och sydvästra Sverige (Tabell 4). Någon skillnad i PFOA mellan områdena kunde inte påvisas. Det var inte heller någon skillnad i totalkonsumtionen av fisk eller MeHg i blod mellan de tre områdena. Intaget av egenfångad fisk var större ($p=0,05$) i nordöstra Sverige (3-4 gånger/vecka) och i Mellansverige (2 gånger/vecka) än i sydvästra Sverige (6 gånger/år).

Tabell 4. Jämförelse av PFOS, PFOA, MeHg-halter, totalkonsumtionen av fisk/skaldjur (gånger/mån) samt frekvens egenfångad fisk i (1) nordöstra Sverige: Västernorrlands-, Västerbottens- och Gävleborgs län; (2) Mellansverige: Västmanlands-, Värmlands- och Örebro län samt (3) sydvästra Sverige: Västra Götalands- och Hallands län.

	1 NÖ	2 Mellan	3 SV	p-värde
<i>PFOS (µg/l)</i>				
Median	14	19	15	0,02
Range	5,4-55	4,5-67	3,4-35	
<i>PFOA (µg/l)</i>				
Median	1,7	2,0	2,5	0,06
Range	0,5-4,6	0,4-4,8	0,9-3,3	
<i>MeHg i blod (µg/l)</i>				
Median	1,8	2,2	1,9	0,3
Range	0,4-14	0,2-11	0,7-7,1	
<i>Fiskintag (ggr/mån)</i>				
Median	17	17	15	0,1
Range	6,5-57	8,5-62	8,0-39	
<i>Intag av egenfångad fisk</i>				
Median	3-4 ggr/v	2 ggr/v	6 ggr/år	0,05
<i>Intag av gädda, gös, abborre, lake, ål</i>				
Median	1 g/mån	2 ggr/vecka	6 ggr/år	0,006

Slutsatser

PFOS halten i blod ökade signifikant med ökande MeHg halt i blod och med intag av sådana fisksorter som generellt innehåller högre MeHg-halter samt med intag av skaldjur. PFOS halten i blod ökade inte med ökande intag av feta fiskar som generellt innehåller högre halter av dioxiner och PCB, inte heller med intag av animaliska livsmedel. Sammantaget indikerar resultaten att fisk, framför allt rovfisk, kan vara en källa till PFOS exponering.

Om det föreligger några geografiska skillnader i PFOS-exponering går inte säga. PFOS-halterna i blod var högst i Mellansverige. Där var också intaget av sådana fiskar (gädda, gös, abborre, lake och ål) som samvarierade med PFOS-exponeringen högst. Halterna PFOS i abborre från hela Mälaren hör till de högsta uppmätta i Sverige och är mer än 10 ggr högre än halten i abborre från bakgrundsområden. Intaget av egenfångad fisk, som också samvarierade med PFOS i blod, var också något högre i Mellan- och nordöstra Sverige än i sydväst. PFOA-halterna var något högre i sydvästra Sverige.

De uppmätta halterna av PFOS i denna studie (median 15 µg/l; range 3,4-67 µg/l) överensstämmer väl med nyligen rapporterade halter hos svenska män och kvinnor utan känd fiskkonsumtion (median 17 µg/l; range 1,7-37 µg/l; Kärrman et al, 2004). Den större spridningen i denna studie skulle kunna bero på det högre fiskintaget, men någon säker slutsats går inte att dra.

De uppmätta halterna av PFOA i denna studie (median 1,9 µg/l; range 0,5-4,8 µg/l) överensstämmer med halterna uppmätta i ovan nämnda studie (median 2,0 µg/l, range 0,5-12,4 µg/l). Spridningen var dock något lägre i föreliggande studie.

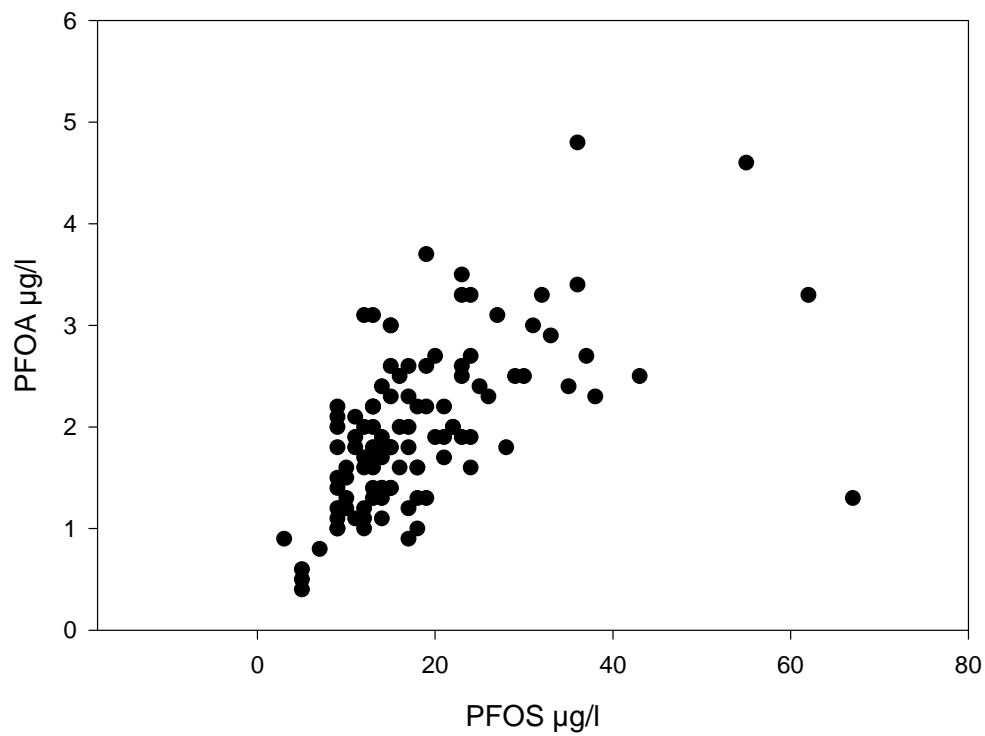
Referenser

Ask K, Petersson-Grawé K, Vahter M, Palm B, Berglund M. Kvicksilverexponering hos kvinnor med högt fiskintag. Rapport till Naturvårdsverket 2002.

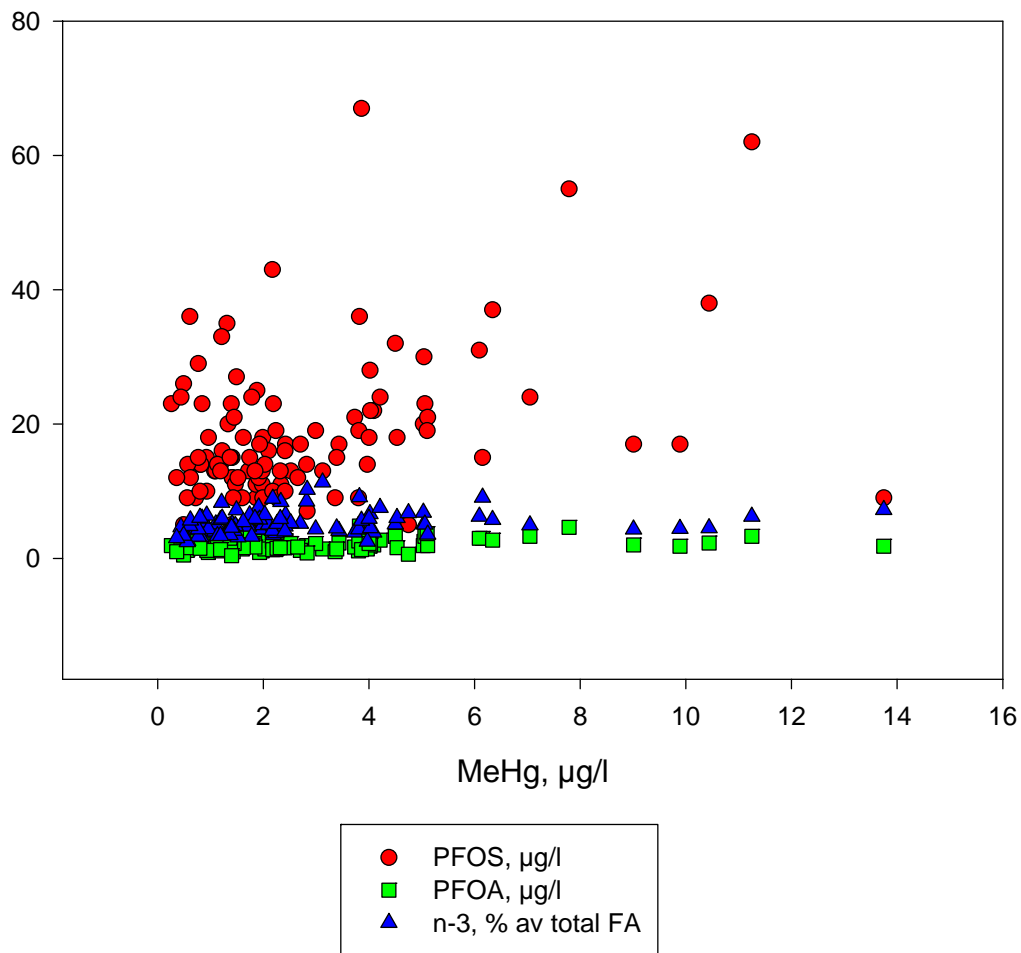
Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Biochem* 1957, 226:497-509.

Hansen KJ, Clemen LA, Ellefson ME, Johnson HO. Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Env Sci Tech* 2001, 35(4):766-70.

Kärrman A, van Bavel B, Hardell L, Lindström G, Järnberg U. Perfluoroalkylated compounds in whole blood and plasma from the Swedish population. Rapport till Naturvårdsverket 2004.



Figur 1. Halten PFOS i blod (µg/l) i förhållande till halten PFOA i blod (µg/l; $r_s=0,61$; $p< 0,001$).



Figur 2. Sambanden mellan MeHg i blod och PFOS, PFOA och n-3 i blod.