



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### **Gebromeerde brandvertragers en perfluorverbindingen in Vlaanderen: onderzoek naar verspreiding, humane opname, gehalten in humane weefsels en/of lichaamsvochten, en gezondheidseffecten als basis voor de selectie van geschikte milieu- en gezondheidsindicatoren (BFRISK)**

D'Hollander, W.; Roosens, L.; Covaci, A.; Cornelis, C.; Smolders, R.; Van den Heuvel, R.; de Voogt, P.; Nobels, I.; Van Parys, C.; De Coen, W.; Bervoets, L.

#### **Publication date**

2009

#### **Document Version**

Final published version

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

D'Hollander, W., Roosens, L., Covaci, A., Cornelis, C., Smolders, R., Van den Heuvel, R., de Voogt, P., Nobels, I., Van Parys, C., De Coen, W., & Bervoets, L. (2009). *Gebromeerde brandvertragers en perfluorverbindingen in Vlaanderen: onderzoek naar verspreiding, humane opname, gehalten in humane weefsels en/of lichaamsvochten, en gezondheidseffecten als basis voor de selectie van geschikte milieu- en gezondheidsindicatoren (BFRISK)*. Universiteit Antwerpen/Universiteit van Amsterdam/VITO. <https://www.lne.be/gebromeerde-brandvertragers-en-perfluorverbindingen-in-vlaanderen>

#### **General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### **Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

*UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (<https://dare.uva.nl>)*

**Gebromeerde brandvertragers en perfluorverbindingen in  
Vlaanderen: onderzoek naar verspreiding, humane opname,  
gehalten in humane weefsels en/of lichaamsvochten, en  
gezondheidseffecten als basis voor de selectie van geschikte milieu-  
en gezondheidsindicatoren (BFRISK)**

**Samenvattend rapport**

Juni 2009

D'Hollander Wendy, Roosens Laurence, Covaci Adrian, Cornelis Christa, Smolders Roel,  
Van den Heuvel Rosette, de Voogt Pim, Nobels Ingrid, Van Parys Caroline, De Coen Wim,  
Bervoets Lieven

LNE/OL200500058/6003/M&G

In opdracht van de dienst Milieu & Gezondheid van het departement LNE



## WOORD VOORAF

Gebromeerde brandvertragers en perfluorverbindingen zijn twee recente klassen van persistente organische verbindingen met een hoog productievolume, een breed gamma aan toepassingsmogelijkheden (isolatiemateriaal, textiel, huishoudartikelen, e.a.) en een wereldwijde verspreiding. Ze worden echter slechts sinds een tiental jaren bestudeerd in wetenschappelijke studies, de kennis omtrent hun voorkomen in Vlaanderen en hun mogelijke effecten op de menselijke gezondheid is bijgevolg nog zeer beperkt. Onderhavige studie wil hieraan een eerste invulling geven.

Het voorliggend document werd uitgewerkt door Universiteit Antwerpen, Vito en Universiteit van Amsterdam en beschrijft op een geïntegreerde wijze de verschillende deelfasen van het project, gaande van optimalisatie van analysetechnieken, over identificatie van relevante humane blootstellingsroutes en het beschrijven en interpreteren van beschikbare toxiciteitsinformatie, tot een eerste inschatting van de blootstelling van de Vlaamse bevolking aan de desbetreffende polluenten. Gezien het zeer uiteenlopende karakter van de verschillende onderdelen van de studie en de tot op heden beperkte wetenschappelijke kennis voor een aantal onderdelen, was dit geen gemakkelijke uitdaging voor de opdrachtnemers. Zij werden hierin begeleid door een zeer actieve stuurgroep, waarin verschillende betrokken overheden vertegenwoordigd waren. Tijdens verschillende stuurgroepvergaderingen kwam het tot een uitermate boeiende uitwisseling van kennis en inzichten.

Deze studie rapporteert voor de eerste maal op een geïntegreerde wijze over de blootstelling van de Vlaamse bevolking aan gebromeerde brandvertragers en perfluorverbindingen. Gezien de studie echter aangeeft dat op verschillende vlakken nog wetenschappelijke leemtes en onzekerheden heersen, dient de studie niet te worden beschouwd als een eindpunt, maar eerder als een startbasis waarop verder beleidsvoorbereidend onderzoek kan gestoeld worden om tot een efficiënte Vlaamse beleidsaanpak voor beide klasse polluenten te komen.

Karen Van Campenhout en Hans Reynders,  
Dienst Milieu & Gezondheid,  
Departement Leefmilieu, Natuur en Energie  
juni 2009

Met dank aan de leden van de stuurgroep: Marjory Desmedt (VMM), Myriam Bossuyt (VMM), Griet Van Gestel (OVAM), Peter Schryvers (LNE), Rita Van Ham (LNE), Christine Vinckx (FOD).



## SAMENVATTING

De hoofddoelstelling van deze studie was een eerste aanzet te geven voor een risico-analyse van gebromeerde vlamvertragers (BFRs) en perfluorverbindingen (PFCs) voor Vlaanderen en hierbij behorende beleidsaanbevelingen op te stellen. Hiervoor werden verschillende deeldoelstellingen of onderzoeksfasen geformuleerd:

- Fase 1: validatie van de chemische analyse-methoden
- Fase 2: inventarisatie van blootstellingsinformatie betreffende de concentraties en verspreidingspatronen van BFRs en PFCs in Vlaanderen en Europa;
- Fase 3: identificatie van de verschillende blootstellingsroutes van BFRs en PFCs voor de Vlaamse bevolking
- Fase 4: inventaris van toxiciteitsinformatie en selectie van geschikte blootstelling- en effectmerkers voor niet-invasieve humane biomonitoring
- Fase 5: blootstellings- en risico-analyse voor de Vlaamse bevolking
- Fase 6: de leemtes in de kennis en beleidsaanbevelingen geformuleerd

Uit de validatiefase (fase 1) bleek dat PFOS en PFOA in serum op een betrouwbare en herhaalbare manier kunnen gemeten worden aan de UA. Voor een aantal voedselitems echter was de variatie voor bepaalde PFCs in de ringtest hoog tot zeer hoog (bijvoorbeeld PFOS in aardappel, PFBA in prei, PFOS in eieren). Gezien bovendien het beperkte karakter van de ringtest is het moeilijk om uitspraak te doen over de betrouwbaarheid van de meetresultaten in voedsel. Dit heeft belangrijke gevolgen voor de risico-inschatting van PFCs waarbij het aandeel van voedsel in de opname van PFCs nog grotendeels onzeker is. Analytische technieken voor detectie van gebromeerde vlamvertragers stonden reeds op punt. Door deelname aan verscheidene nationale en internationale ringtesten werd de betrouwbare analyse van zowel biotische als a-biotische matrices gegarandeerd.

Er werden in deze studie stalen verzameld van groenten, fruit, vlees, eieren, koemelk, drinkwater en vis. Bovendien werden binnenhuisstofstalen verzameld in 43 woningen en 10 kantoren en tenslotte werden metingen uitgevoerd in humaan bloed en moedermelk.

Voor het geteelde voedsel werd er zowel van biologische als van klassieke landbouw bemonsterd. Gezien het beperkt aantal replicaten per voedselitem was het echter niet mogelijk om een betrouwbare uitspraak te doen over het effect van teeltwijze op BFR- of PFC-concentraties. Wat de gemeten BFR-concentraties in voedselstalen betreft waren de gehalten in producten van Vlaamse bodem, afhankelijk van het type staal vergelijkbaar (bvb groenten en fruit), licht verhoogd (bvb eieren en koemelk) of licht verlaagd (bvb vlees) in vergelijking met de waarden gevonden in andere buitenlandse studie(s). Wat de stofstalen betreft, waren de mediaanwaarden hoger in kantoren dan in woningen. De statistische verwerking van de resultaten gaf een sterke indicatie aan dat in stof van woningen met veel tapijten of gordijnen de gehalten aan BFRs hoger waren dan in woningen met weinig tapijten en/of gordijnen. Er kon geen effect worden aangetoond van de aan- of afwezigheid van elektronische apparatuur. In vergelijking met buitenlandse studies waren de BFR-gehalten in stof uit Vlaamse woningen vergelijkbaar met gehalten uit Groot-Brittannië (niet voor deca BDE en HBCDs) en Nieuw-Zeeland, maar een factor 10 lager in vergelijking met stof afkomstig van de Verenigde Staten en Canada, wat betreft de penta congenen.. BFR-gehalten in humaan serum werden in het kader van een andere studie gemeten. Wat de BFR-gehalten in moedermelk betreft werd er geen verschil gevonden tussen jonge (18-26 j) en oudere (27-36 j) moeders.

Wat de PFCs betreft was vergelijking van de gehalten in voeding met literatuurgegevens moeilijk gezien de beperkte beschikbare studies en het gebrek aan informatie over de geanalyseerde voedselsoorten. Ruwweg kan gesteld worden dat ook voor PFCs in voedsel

geteeld in Vlaanderen soms vergelijkbare (bvb groente/fruit en vlees), licht verlaagde (bvb koemelk) of licht verhoogde (eieren) gehalten werden gemeten dan in andere studies. Wat de PFCs in stof betreft waren net zoals voor BFRs de mediane gehalten in kantoren hoger dan in woningen. Er werden geen statistische verschillen gevonden tussen gehalten in woningen met veel en woningen met weinig tapijten/gordijnen of elektronische apparatuur. In vergelijking met de literatuur waren de mediane gehalten van PFOS en PFOA in stof uit Vlaanderen lager dan in Duitse, Engelse en Zweedse woningen. Voor de andere componenten was nauwelijks literatuur beschikbaar.

Binnen het huidige project werden ook PFCs gemeten in humaan bloed en moedermelk. In de literatuur werden soms lagere, soms hogere gehalten gemeten in humaan serum. Net zoals voor de BFRs werden voor moedermelk geen significante verschillen in PFCs gevonden tussen jonge en oudere moeders. In vergelijking met buitenlandse studies lagen de gemeten PFOS en PFOA gehalten in Vlaamse moedermelk beduidend hoger.

In de laatste fase van de studie werd, gebruik makend van de verzamelde analysesresultaten en de toxiciteitsinformatie (fase 4) een BFR- en PFC-specifieke risico-evaluatie opgesteld. Voor voeding en stof werd gebruik gemaakt van data uit het project. Voor voeding zijn de data bovendien aangevuld met gegevens uit de literatuur; voor bodem en lucht zijn de data uitsluitend afkomstig uit de literatuur. Er werd geen rekening gehouden met de impact van bereiding of verpakkingsmateriaal op de gehalten in levensmiddelen. Bovenstaande aanpak zorgt ervoor dat de resultaten dienen beschouwd te worden als een eerste preliminaire risico-inschatting en met de nodige omzichtigheid dienen geïnterpreteerd te worden. Voor de BFRs werd vastgesteld dat de totale inname in belangrijke mate wordt bepaald door de inname via voeding en dat bij vergelijking van de totale blootstelling met humaantoxicologische criteria, ook bij hoge innames, er geen overschrijding is van deze criteria. Deze lipofiele producten vinden we in hogere concentratie terug in producten van dierlijke oorsprong, vandaar de belangrijke bijdrage van vlees en vette vis tot de totale humane blootstelling. We leggen evenwel de nadruk op het belang van blootstelling via stof omdat deze matrix sporadisch zeer hoge waarden kan vertonen. De inname via moedermelk vertoont evenwel een kleine marge met de humaantoxicologische criteria. Voor de PFCs werd de schatting van de inname beperkt tot PFOS en PFOA. De totale inname van PFOS en PFOA wordt volledig bepaald door de inname via voeding. Bij kinderen wordt de inname gedomineerd door aardappelen (vooral PFOS), fruit en groenten. Voor PFOA zijn zuivel en vlees ook belangrijk, terwijl voor PFOS vis en visserijproducten nog van tel zijn. Bij volwassenen wordt de inname van PFOS gedomineerd door vis en visserijproducten, terwijl voor PFOA de inname vrij gelijk verdeeld is over vis en visserijproducten, aardappelen, fruit en groenten. Voor PFOS spelen aardappelen ook een belangrijke rol.

Uitgaande van de serummetingen van PFOS en PFOA werd via een ééncompartimentenmodel een schatting gemaakt van de inname (als voeding). Dit levert gemiddelde waarden op, die lager liggen dan hetgeen met de innameberekeningen geschat werd. Wanneer we de berekende inname vergelijken met humaantoxicologische criteria, dan stellen we vast dat er voor PFOS bij kinderen een overschrijding is van de TDI (reeds bij gemiddelde blootstelling), terwijl er voor PFOA nog ruime marge is tussen blootstelling en TDI.

Uit de uitgevoerde studie kwamen er nog een aantal leemtes in de kennis naar voor. Nochtans was het toch al mogelijk om een aantal beleidsaanbevelingen te formuleren.

Wat de analyse van de componenten betreft was de belangrijkste leemte in de kennis de onzekerheid om op betrouwbare manier PFCs te meten in voedselstalen en dat voornamelijk in groenten. Omdat dit belangrijke consequenties heeft voor de risico inschatting is het noodzakelijk dat geparticipeerd wordt aan internationale ringtesten voor die matrices of indien ze niet bestaan ze op te starten.

Wat de verspreiding in het milieu betreft is nog weinig geweten omtrent huidige en toekomstige belasting van verschillende milieucompartimenten (sedimenten, bodem, grondwater,...) en wat de impact hiervan is op de voedselketen en de opname door de mens. Betreffende de toxicologische effecten van BFRs en PFCs is er nog steeds nood aan relevante toxicologische informatie. Vooral voor de meer recente PFCs bestaan er momenteel nog grote gaten in de kennis omtrent de werkingsmechanismen, de toxico- en farmacokinetische karakteristieken en het lange-termijngedrag in het milieu. Verder onderzoek is nodig naar de organismale effecten van deze stoffen en dan vooral embryonale en foetale effecten en effecten op zuigelingen.

Het opvullen van deze leemtes zal ook een meer betrouwbare risico-inschatting voor humane blootstelling toelaten. Voor deze evaluatie is het bovendien noodzakelijk dat concentraties worden bepaald in bodem en lucht (vooral binnenlucht en voertuigen) en dat er Vlaamse of Belgische voedselconsumptiedata worden gegenereerd voor kinderen tussen 0,5 jaar en 15 jaar.





## Inhoudstafel

Woord vooraf .....	1
SAMENVATTING .....	3
Afkortingen .....	9
Lijst van figuren .....	10
Lijst van tabellen .....	11
1. Inleiding .....	13
2. Doelstellingen .....	17
3. Aanpak .....	19
<b><u>3.1 Validatie van de extractie- en analysetechnieken</u></b> .....	19
<b><u>3.2 Selectie van stalen en staalname</u></b> .....	19
3.2.1 Herkomst voedselstalen .....	19
3.2.2 Herkomst stofstalen .....	20
3.2.3 Herkomst serumstalen en moedermelkstalen .....	20
<b><u>3.3 Staalvoorbereiding</u></b> .....	22
3.3.1 Staalbewaring .....	22
3.3.2 Homogenisatie .....	22
3.3.3 Verdere staalvoorbereiding voor de analyse van de gebromeerde vlamvertragers .....	22
3.3.4 Verdere staalvoorbereiding voor de analyse van de perfluorverbindingen .....	24
3.3.4.1 Extractie .....	24
3.3.4.2 Clean-up .....	25
<b><u>3.4 Analyse</u></b> .....	26
3.4.1 Analyse van de gebromeerde vlamvertragers .....	26
3.4.2 Analyse van de perfluorverbindingen .....	27
4. Resultaten en bespreking van de metingen .....	29
<b><u>4.1 Resultaten van de validatiefase</u></b> .....	30
<b><u>4.2 Resultaten voor de gebromeerde vlamvertragers</u></b> .....	31
4.2.1 Voedselstalen .....	31
4.1.2. Stofstalen .....	35
4.1.3 Moedermelkstalen .....	36
<b><u>4.3 Resultaten voor de perfluorverbindingen</u></b> .....	37
4.3.1 Voedselstalen .....	37
4.3.2 Leidingwater .....	45
4.3.3 Stofstalen .....	45
4.3.4 Serumstalen .....	47
4.3.5 Moedermelkstalen .....	51
<b><u>4.4 Correlaties tussen PFCs en BFRs</u></b> .....	53
5. Beschikbare toxiciteitsinformatie voor perfluorverbindingen en gebromeerde vlamvertragers .....	55
<b><u>5.1. Inleiding</u></b> .....	55
<b><u>5.2. Perfluorverbindingen</u></b> .....	55
<b><u>5.3 Gebromeerde vlamvertragers</u></b> .....	57

<b><u>5.4 Aanvullende toxiciteitstesten voor mechanistische karakterisatie</u></b> .....	58
5.4.1 Inleiding .....	58
5.4.2 Experimentele opzet .....	58
5.4.3 Resultaten en bespreking .....	62
5.4.3.1 <i>Cat-tox assay</i> .....	62
5.4.3.2 <i>MCF-7 oestrogeniteitstest</i> .....	69
5.4.4 Besluit .....	76
<b>6. BFR- en PFC-specifieke risico analyse</b> .....	79
<b><u>6.1. Inleiding</u></b> .....	79
<b><u>6.2 Gevolgde methodologie</u></b> .....	79
6.2.1 Algemeen .....	79
6.2.2 Invoergegevens .....	82
<b><u>6.3 Resultaten</u></b> .....	87
6.3.1 Brandvertragers .....	87
6.3.2 Perfluorverbindingen .....	94
<b>7. Leemten in de kennis</b> .....	99
<b><u>7.1 Bemonstering</u></b> .....	99
<b><u>7.2 Extractie en analyse</u></b> .....	100
7.1.1 Gebromeerde vlamvertragers .....	100
7.1.2 Perfluorverbindingen .....	100
<b><u>7.3 Toxiciteit van BFRs en PFCs</u></b> .....	102
7.3.1 Leemtes in de toxicologische en epidemiologische kennis .....	102
7.3.2 Biomerkers voor humane biomonitoring .....	104
7.3.3 Aanvullende mechanistische <i>in vitro</i> studies .....	105
<b><u>7.4 Humane blootstelling aan gebromeerde vlamvertragers en perfluorverbindingen</u></b> .....	105
<b>8. Referenties</b> .....	109

## *Afkortingen*

AMAP	Arctic Monitoring Assessment Program
BDE	Brominated Diphenyl Ether
BFRs	Brominated Flame retardants
DCM	Dichloormethaan
EC20	Concentratie waarbij 20% effect wordt gemeten
EC50	Concentratie waarbij 50% effect wordt gemeten
ECNI	Electron Capture Negative Ionization
EFF	Effectconcentratie
EFSA	European Food Safety Agency
ER	Estrogen Receptor
EPA	Environmental Protection Agency
FSA	Food Standards Agency
GC	Gaschromatografie
GC-MS	Gaschromatografie-Massaspectrometrie
GPC	Gel Permeatie Chromatografie
HBCD	Hexabromocyclododecaan
Hex	Hexaan
HLB	Hydrophilic Lipophilic Balance
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IARC	International Agency for Research on Cancer
JECFA	Joint (FAO/WHO) Expert Committee on Food Additives
LC-MS	Liquid chromatography-massaspectrometry
LOD	Limit Of Detection
LOQ	Limit Of Quantification
LP-GC	Low Pressure Gaschromatography
MMQA	Marine Mammals Quality Assessment
MRM	Multiple Reaction Monitoring
m/z	massa over lading
N-EtFOSE	N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)perfluorooctanesulfonamide
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NOEC	No Observed Effect Concentration
NRC	National Research Council
OESO	Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling
PBDE	Polybrominated diphenyl ether
PBDEs	Polygebromeerde difenylethers
PCA	Principal Component Analysis
PCB	Polygechloreerde Biphenylen
PFBA	Perfluorobutanoic acid
PFBS	Perfluorobutanoic sulfonate
PFCS	Perfluorinated alkylated compounds
PFDA	Perfluorodecanoic acid
PFDoA	Perfluorodecanoic acid
PFDS	Perfluorodecane sulfonate
PFHeA	Perfluoroheptanoic acid
PFHpA	Perfluorheptanoic acid
PFHxA	Perfluorohexanoic acid
PFHxS	Perfluorohexane sulfonate

PFNA	Perfluorononanoic acid
PFOA	Perfluorooctanoic acid
PFOS	Perfluorooctane sulfonate
PFOSA	Perfluorooctanesulfonamide,
PFPeA	Perfluoropolyalkylether N,N-diphenylamide
PFTeA	Perfluorotetradecanoic acid
PFTTrA	Perfluorotridecanoic acid
PFUnA	Perfluoroundecanoic acid
PTFE	Polytetrafluoroethylene, beter bekend als Teflon
PP	Polypropyleen,
PTV	Programmable Temperature Vaporiser
RfC	Reference concentration, de maximale aanvaardbare concentratie van een stof die via de ademhaling mag opgenomen worden,
RfD	Reference dose, de maximale concentratie die oraal mag worden opgenomen
RPE	Relatief proliferatief effect
RPP	relatief proliferatieve potentie
SIM	Selected Ion Monitoring
TBBP-A	Tetrabromobisphenol A
TDI	Tolerable Daily Intake
UA	Universiteit Antwerpen
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UvA	Universiteit van Amsterdam
VITO	Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek
WGO	Wereldgezondheids Organisatie

## ***Lijst van figuren***

Figuur 1. De moleculaire structuur, acronym en naam van verschillende perfluorverbindingen .....	14
Figuur 2. basisstructuur van PBDEs met brooms substitutie afhankelijk van de congener.....	15
Figuur 3. Schematische voorstelling van de samenstelling van de mengsels: a) binaire mengsels, b) tertiaire mengsels .....	59
Figuur 4. Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan TBBPA. ....	63
Figuur 5. Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan HBCD. ....	63
Figuur 6. Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan dBDE. ....	64
Figuur 7. Individuele profielen van de vlamvertragers (blauwe en rode blokken) en de binaire mengsels aan de EFF concentratie, de verwachte respons (uitgaande van sommatie van de individuele responsen) (licht blauwe blokken) en de waargenomen respons (gele blokken)..	68
Figuur 9. Cytotoxiciteitsassay na blootstelling van HepG2 levercellen aan binaire en tertiaire mengsels van gebromeerde vlamvertragers. x-as: NOEC en EFF concentraties zoals beschreven in tabel 17. Y-as: RFU (relatieve fluorescentie eenheden) als maat voor cytotoxiciteit.....	68
Figuur 10. Dosisrespons-curven voor de 6 teststoffen en de positieve controle, 17 $\beta$ -Estradiol. Data worden voorgesteld als % Relatief Proliferatief Effect (RPE) ten opzichte van de maximale inductie met 17 $\beta$ -Estradiol (100%), waarbij 0% de achtergrondproliferatie van de solvent controle (0,1% DMSO) aangeeft. Elk datapunt geeft het gemiddelde van 3 biologische replicaten en zijn standaard deviatie (vlag) weer. ....	70

Figuur 11. Relatief Proliferatief Effect (RPE, %) van een actieve concentratie van elke teststof, met (grijs) en zonder (zwart) toedienen van ER-blocker (ICI 182,780). SC = Solvent Controle (0,1% DMSO). .....	72
Figuur 12. Relatief Proliferatief Effect (RPE, %) van de enkelvoudige vlamvertragers en perfluorverbindingen en hun respectievelijke binaire en tertiaire mengsels bij de gekozen NOEC (a en c) en de EFF (b en d) concentratie. Naast de gemeten data (observed) werd eveneens het gesommeerde resultaat van de mengsel weergegeven (expected). Elk datapunt (observed) geeft het gemiddelde van 3 biologische replicaten en zijn standaard deviatie (vlag) weer. Sterretjes duiden op significante verschillen ten opzichte van de solvent controle weer (ANOVA, Dunett's post hoc, * = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001). .....	74
Figuur 13. Gemiddelde inname van gebromeerde brandvertragers via de voeding en moedermelk in functie van leeftijd (P50 concentraties voor moedermelk, gemiddelde concentraties voor voeding) .....	88
Figuur 14. Gemiddelde inname van PFOS en PFOA via de voeding (inclusief borstvoeding) in functie van leeftijd.....	95
Figuur 15. Vergelijking van de berekende inname van PFOS en PFOA via voeding met recente Europese schattingen. (BFRISK: innameschatting; BFRISK serum: terugrekening van inname vanuit gemeten serumconcentraties via ééncompartimenteel farmacokinetisch model) .....	98

## ***Lijst van tabellen***

Tabel 1. Overzicht van het aantal individuele moedermelkstalen waaruit de mengstalen zijn samengesteld voor 10 provincies en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest. ....	21
Tabel 2. Overzicht van PBDE en HBCD concentraties in voedingsstalen. Vergelijking tussen biologisch geteeld en niet-biologisch geteeld voedsel (met n=3). ....	33
Tabel 3. Overzicht PBDE en HBCD concentraties in vissoorten (ng/g lw) uit de Noordzee. ..	35
Tabel 4. Overzicht PBDE en som HBCD's concentraties in binnenhuisstof (woningen en kantoren).....	35
Tabel 5. Overzicht PBDE en som HBCD's concentraties in moedermelk in pg/g lw (vetgewicht).....	37
Tabel 6. Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in biologische voedingsstalen. Indien < X; X= de kwantificatielimiet. (met n=3) ..	38
Tabel 7. Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in voedingsstalen van klassieke teelt. Indien < X; X= de kwantificatielimiet.(met n=3) .....	39
Tabel 8. Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in koemelkstalen. Indien < X, X= de kwantificatielimiet. (met n=3).....	43
Tabel 9. Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (ng/g) in kabeljauw en paling. (met n=3).....	43
Tabel 10. Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (pg/ml) in bier. (met n=6).....	45
Tabel 11. Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (pg/ml) in leidingwater. (met n=4).....	45
Tabel 12. Het bereik en de mediaan van de PFC-concentraties (ng/g ww) in binnenhuisstof verzameld in woningen en kantoren.....	46
Tabel 13. Resultaten serumstalen uit 10 verschillende gebieden (1: Antwerpse agglomeratie, 2: Havens (Antwerpse haven en Gentse kanaalzone), 3: Fruitstreek, 4: Olen, 5: Gentse agglomeratie, 6: Regio verbrandingsoven, 7: Landelijk, 8: Albertkanaalzone, 9: Antwerpse Haven, 10: Gentse Kanaalzone) voor 3 verschillende leeftijdscategorieën: adolescenten,	

volwassen en pasgeborenen. De gemiddelde concentraties worden weergegeven met de standaarddeviatie (op 3 extracten) en zijn uitgedrukt in ng/ml. *: geen standaarddeviatie omdat er slechts één extract werd gemeten ipv 3.....	49
Tabel 14. Resultaten moedermelkstalen in ng/ml van 10 Belgische provincies en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest en 2 leeftijdsgroepen van de moeders; groep 1: 18-26 jaar; groep 2: 27-30 jaar.....	52
Tabel 15. Bereik en mediaan van de verschillende PFCs in moedermelk van de twee leeftijdsgroepen.....	53
Tabel 16. Overzicht cat-tox promoters (HepG2, promotor::cat).....	60
Tabel 17. Concentraties van de individuele componenten voor de samenstelling van de binaire en tertiaire mengsels.....	65
Tabel 18. Overzicht van de RPEmax-waarden, EC20 waarden en de daaruit afgeleide RPP-waarden voor de verschillende teststoffen en 17β-Estradiol.....	71
Tabel 19. Geselecteerde NOEC en EFF concentraties voor de mengselblootstellingen op basis van de resultaten van de enkelvoudige stoffen.....	72
Tabel 20. Overzicht van de waarden voor de gedefinieerde blootstellingsparameters.....	81
Tabel 21. Concentraties van brandvertragers in moedermelk zoals gebruikt in de innameschatting (ng/g).....	83
Tabel 22. Gemiddelde concentraties van PBDE en HBCD in voeding, zoals gebruikt in de innameschattingen (ng/g vers gewicht).....	84
Tabel 23. P50 en P95 concentraties van PBDE en HBCD in afgezet stof en in bodem, zoals gebruikt in de innameschattingen (ng/g).....	85
Tabel 24. Concentraties van PBDE en HBCD in lucht, zoals gebruikt in de innameschattingen (pg/m <sup>3</sup> ).....	86
Tabel 25. Geometrisch gemiddelde en P95 concentraties van PFOS en PFOA in moedermelk (ng/g).....	86
Tabel 26. Gemiddelde concentraties PFOS en PFOA in levensmiddelen, zoals gebruikt in de innameschatting (ng/g vers gewicht).....	86
Tabel 27. Inname van gebromeerde brandvertragers via moedermelk (ng/kg.dag).....	88
Tabel 28. Inname van gebromeerde brandvertragers via voeding door de Vlaamse (Belgische) bevolking (ng/kg.dag).....	90
Tabel 29. Gemiddelde totale inname van gebromeerde brandvertragers, P50 concentraties (ng/kg.dag).....	90
Tabel 30. Gemiddelde totale inname van gebromeerde brandvertragers, P95 concentraties (voeding: gemiddeld) (ng/kg.dag).....	91
Tabel 31. Orale RfD-waarden en hellingsfactoren voor gebromeerde diphenylethers, afgeleid door US-EPA (IRIS-databank).....	92
Tabel 32. Gemiddelde inname van brandvertragers uit voeding in Europese studies.....	94
Tabel 33. Inname van PFOS en PFOA via moedermelk (ng/kg.dag).....	95
Tabel 34. Inname van PFOS en PFOA via voeding door de Vlaamse (Belgische) bevolking (ng/kg.dag).....	96
Tabel 35. Toetsing van de blootstelling aan BDE aan RfD-waarden (RI-waarden).....	97

## ***1. Inleiding***

Deze verkennende studie tracht een algemeen beeld te schetsen van verspreiding van gebromeerde en perfluorverbindingen in Vlaanderen en de mogelijke effecten ervan op de menselijke gezondheid. Ondanks het jarenlang gebruik van beide productklassen is dit tot hertoe het eerste onderzoek dat de contaminatieprofielen van deze producten in Vlaanderen in relatie tot de menselijke gezondheid tracht in kaart te brengen.

**Perfluoralkyl chemicaliën** (PFCs) worden sinds de jaren 60 massaal gebruikt voor de behandeling van o.a. kleding, in blusschuim enz.. omwille van hun specifieke eigenschappen (water- en vetafstotend, persistent t.o.v. zuren,...). Sinds begin 2000 werd duidelijk dat de bevolking van vnl. westerse landen reeds lange tijd wordt blootgesteld aan deze klasse van chemicaliën. PFCs omvatten een brede waaier aan componenten bestaande uit tientallen structureel verschillende chemicaliën met één gemeenschappelijk kenmerk: de perfluor-alkyl keten (figuur 1). Deze perfluorstructuur zorgt voor de gewenste inerte eigenschappen. De meest voorkomende en best gedocumenteerde stof is PFOS (perfluorooctaansulfonaat). PFCs zijn biologisch niet of nauwelijks afbreekbaar, stapelen zich op in de voedselketen en worden wereldwijd aangetroffen in biota (pinguins, ijsberen, vissen etc) (Giesy & Kannan, 2001). De gezondheidsrisico's voor de mens worden op dit ogenblik nog in detail onderzocht, al staat vast dat deze stoffen verscheidene toxische nevenwerkingen vertonen zoals neurologische en endocriene effecten in reproductiestudies van ratten (Kannan *et al.*, 2004). De OESO heeft PFOS gekatalogeerd als “toxisch voor zoogdieren” (OECD, 2002), de USEPA heeft recent PFOA (perfluoroctanoaat, EPA, 2006) als “carcinogeen voor proefdieren” geklasseerd.

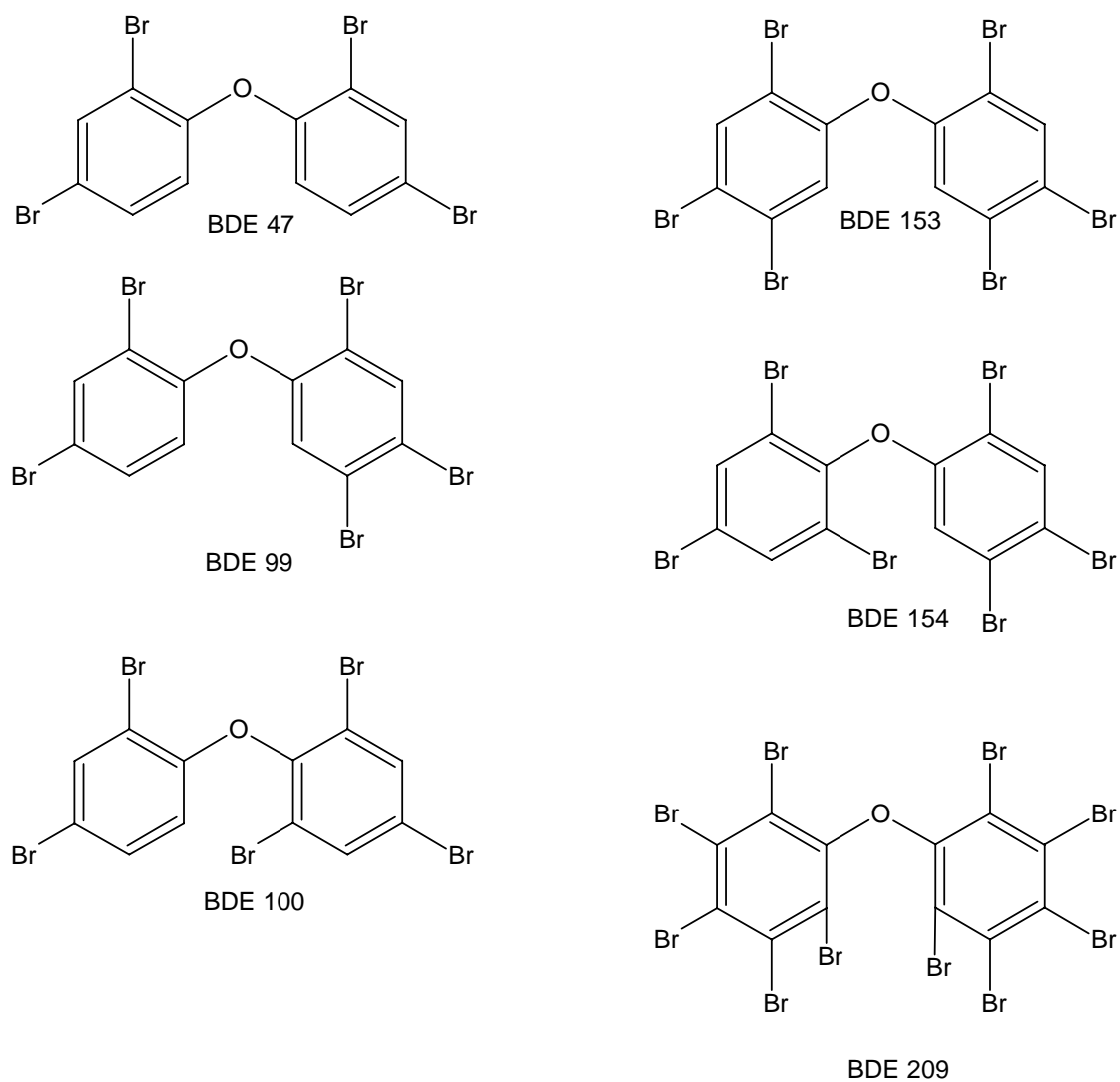


<u>Perfluorcarboxylaten</u>				
CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> COOH	n=3	PFBA	Perfluorobutanoic acid	
	n=4	PFHxA	Perfluorohexanoic acid	
	n=5	PFHpA	Perfluorhepanoic acid	
	n=6	PFOA	Perfluorooctanoic acid	
	n= 7	PFNA	Perfluorononanoic acid	
	n=8	PFDA	Perfluorodecanoic acid	
	n=9	PFUnA	Perfluoroundecanoic acid	
	n=10	PFDoA	Perfluorodecanoic acid	
	n=11	PFTrA	Perfluorotridecanoic acid	
	n=12	PFTeA	Perfluorotetradecanoic acid	
	n=13	PFPeA	Perfluoropentadecanoic acid	
	<u>Perfluorsulfonaten</u>			
	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	n=3	PFBS	Perfluorobutanoic sulfonate
n=5		PFHxS	Perfluorohexane sulfonate	
n=7		PFOS	Perfluorooctane sulfonate	
n=9		PFDS	Perfluorodecane sulfonate	
<u>Perfluorsulfonamiden</u>				
C <sub>8</sub> F <sub>17</sub> SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	PFOSA		Perfluorooctanesulfonamide	

**Figuur 1.** De moleculaire structuur, acronym en naam van verschillende perfluorverbindingen

**Polygebromeerde vlamvertragers** (Brominated Flame Retardants, BFRs) worden gebruikt in tal van huishoudelijke apparaten, textiel, constructiematerialen e.d. Door hun weerstand tegen hitte, licht en oxidatie worden ze ook in het leefmilieu teruggevonden. Milieurelevante vertegenwoordigers van deze familie zijn o.a. polygebromeerde difenylethers (PBDE's of BDE's) (figuur 2), hexabroomcyclododecaan (HBCD) en tetrabroombisfenol-A (TBBP-A). Tot op heden blijft er onzekerheid over de humane toxiciteit van de meeste van deze moleculen. Zo bestaan er nog onvoldoende gegevens op basis van dewelke PBDE-congeneren kunnen geëvalueerd worden als menselijke carcinogenen (IARC, 1990). Proefdierstudies met

ratten toonden wel aan dat PBDE's neurotoxiciteit veroorzaken en de schildklierfunctie beïnvloeden.



**Figuur 2.** basisstructuur van PBDEs met broomsstitutie afhankelijk van de congeener

Het is uitermate urgent om de diverse humane opnameroutes van deze stoffen in kaart te brengen, om zo op een adequate wijze met de belangrijkste contaminatiebronnen en de gerelateerde gezondheidsrisico's om te gaan. Dit project beoogt om zowel voor BFRs als voor PFCs aan deze vragen tegemoet te komen.



## ***2. Doelstellingen***

De centrale doelstelling van deze studie is een eerste aanzet te geven voor een BFR- en PFC-specifieke risico-analyse voor Vlaanderen en hierbij behorende beleidsaanbevelingen.

Om tot deze einddoelstelling te kunnen komen werden verschillende deeldoelstellingen vastgelegd in 6 fasen:

- fase 1: Validatie van de vastgelegde en gebruikte chemische analysetechnieken
- fase 2: Inventarisatie van alle beschikbare blootstellingsinformatie betreffende de concentraties en verspreidingspatronen van BFRs en PFCs in Vlaanderen
- fase 3: Aanzet tot identificatie van de verschillende blootstellingsroutes van BFRs en PFCs voor de Vlaamse bevolking
- fase 4: Inventarisatie van alle beschikbare toxiciteitsinformatie en selectie van geschikte blootstelling- en effectmarkers voor niet-invasieve humane biomonitoring
- fase 5: Opstellen van een blootstellings- en risico-analyse voor de Vlaamse bevolking
- fase 6: Identificatie van bestaande leemtes

Voor de volledige resultaten van fase 1, 2 en 3 wordt verwezen naar het deelrapport I. Voor de volledige resultaten van fase 4 wordt verwezen naar het deelrapport II. Deelrapport III bevat de blootstellings- en risico-analyse.

In het voorliggende samenvattende rapport zullen de resultaten samengevat worden weergegeven.



### **3. Aanpak**

#### **3.1 Validatie van de extractie- en analysetechnieken**

In een eerste fase van het project werden de extractiemethodes en analysetechnieken op punt gesteld. Voor het partim met betrekking tot de BFRs kon hiervoor verwezen worden naar verschillende internationale ringtesten, dit was echter niet het geval voor het partim PFCs. Om toch een geringe kwaliteitscontrole te kunnen doorvoeren, werden serumstalen van bestaande internationale ringtesten aan de UA geanalyseerd op PFOS en PFOA. Bovendien werd een miniringtest uitgevoerd voor de PFCs in verschillende matrices (groenten, vlees, melk, stof, water en serum) tussen de UA en de UvA. Voor de volledige beschrijving van de uitgevoerde testen en metingeverwijzen we naar deelrapport I.

De gevolgde methodologie voor de staalbehandeling en metingen vloeit voort uit de validatiefase.

In dit samenvattend gedeelte zullen kort de resultaten van de ringtest besproken worden in 4.1.

#### **3.2 Selectie van stalen en staalname**

Voor de identificatie van de blootstellingsroutes van de geselecteerde pollutanten voor de Vlaamse bevolking werden zowel voedselstalen (groenten, fruit, vlees en vis), drinkwater, als stofstalen bemonsterd en geanalyseerd. Om na te gaan in hoeverre de Vlaamse bevolking reeds blootgesteld is en voor de ontwikkeling en validering van een risicomodel werden eveneens stalen van serum en moedermelk geanalyseerd op de twee groepen van componenten.

##### **3.2.1 Herkomst voedselstalen**

Op basis van de relevantie binnen het voedingspatroon van de Vlaamse bevolking werden een aantal voedingsmiddelen geselecteerd voor analyse. Er werd geopteerd om enkel voedselitems te screenen die geteeld werden in Vlaanderen. Tevens werd door de stuurgroep beslist om een onderscheid te maken tussen biologische landbouw en klassieke teelt. De stalen die geselecteerd werden voor de biologische landbouw zijn producten met het BIOGARANTIE® label. De te analyseren voedselitems kunnen onderverdeeld worden in een aantal groepen waaronder “groenten” (aardappel, wortel, tomaat, witloof, ui, sla, prei en tarwe), “fruit” (appel en aardbei), “vlees” (kip, varken en rund), “zuivel” (kippeneieren en rauwe koemelk), “vis” (paling, kabeljauw, steenbol, schar, wijting, haring, sprout en bot) en “drank” (bier en

leidingwater). Voor paling en kabeljauw, kon geen onderscheid gemaakt worden tussen klassieke en biologische teelt. Voor elk item werden er 6 telers gezocht, 3 biologische telers en 3 “klassieke” telers. Per teler werden telkens drie stuks per geselecteerd voedselitem aangekocht. Deze drie stuks werden per teler gehomogeniseerd en verder behandeld als één samengesteld staal.

Leidingwater werd bemonsterd uit drie verschillende streken; de Antwerpse Kempen (PIDPA: Provinciale en Intercommunale Drinkwatermaatschappij der Provincie Antwerpen); Waasland (AWW: Antwerpse Water Werken) en Gent (TMVW: Tussen gemeentelijke Maatschappij der Vlaanderen voor Watervoorziening).

### 3.2.2 Herkomst stofstalen

De stofstalen werden verzameld met behulp van een nieuw aangekochte stofzuiger, dit om contaminatie door eerder verzameld stof te vermijden. Tevens werden er nylonkousen aangekocht die op het aanzetstuk van de stofzuiger geplaatst werden voor elke stofinzameling. Hierdoor komt het te verzamelen stof enkel in contact met het opzetstuk van de stofzuiger en niet met eventueel andere gecontamineerde delen. Het opzetstuk werd na elke collectie gereinigd met met alcohol doordrenkte doekjes zodat er geen stofoverdracht plaatsvond tussen de verschillende woningen. De te bemonsteren oppervlakte werd in elke woonruimte nauwkeurig afgemeten met behulp van een meetlat. In elke woning werden in de woon/eetkamer en in de slaapkamer 8 m<sup>2</sup> afgebakend en gedurende 8 minuten bemonsterd. In de keuken en, indien aanwezig, in het bureau werd telkens 4 m<sup>2</sup> gedurende 4 minuten bemonsterd. Met behulp van laserdiffractie methode werd in 1 woning bevestigd dat de bemonsterde deeltjesgrootte niet significant afwijkt van deze in de stofzuigerzak zelf. Er werden in totaal 46 huizen bemonsterd op stof. Bij de bemonstering van de huizen werd een vragenlijst ingevuld waarin werd nagegaan hoeveel en welke elektronische apparaten aanwezig waren, of er al dan niet gordijnen, (vaste) tapijten e.d. aanwezig waren.

Naast de huizen werden ook 10 kantoren bemonsterd. In elk kantoor werd gedurende 10 minuten 20 m<sup>2</sup> bemonsterd.

### 3.2.3 Herkomst serumstalen en moedermelkstalen

De serumstalen die voor deze studie geanalyseerd werden, zijn afkomstig van de biomonitoringcampagne van het eerste generatie steunpunt Milieu en Gezondheid. Tijdens deze studie werden acht verschillende Vlaamse regio's geselecteerd waarin telkens drie leeftijdsgroepen bemonsterd werden. De acht regio's worden gekenmerkt als volgt: stedelijke

agglomeraties Antwerpen en Gent, landelijk gebied, fruitstreek, verbrandingsovens, Albertkanaal, havengebied, Olen. In het huidige project werd voor de PFCmetingen het havengebied nog eens opgesplitst in de Antwerpse haven (gebied 9) en de Gentse Kanaalzone (gebied 10). Van beide deelgebieden werden mengstalen aangemaakt vertrekkende van dezelfde studiepersonen als het mengstaal havengebied. De drie leeftijdsgroepen omvatten pasgeborenen, adolescenten (14 tot 15 jaar) en volwassenen (50-65 jaar). Voor de pasgeborenen werd er plasma bemonsterd, voor de andere leeftijdsklassen serum. Serumstalen afkomstig van dezelfde leeftijdsgroep en hetzelfde gebied werden gepoold tot 1 staal. Deze stalen werden reeds eerder geanalyseerd op de aanwezigheid van BFRs (Roosens *et al.* in voorbereiding). De samenstelling van de pools zal waarschijnlijk echter verschillen (dus niet noodzakelijk dezelfde individuen per pool). Voor een samenvatting van de resultaten van de BFRs verwijzen we naar deelstudie I.

De moedermelkstalen die geanalyseerd werden zijn resterende stalen van de 4<sup>e</sup> WHO-moedermelkcampagne (POP's in moedermelk: Belgische resultaten anno 2006) uitgevoerd in opdracht van nationale cel Leefmilieu-Gezondheid. Uit de tien Belgische provincies en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest werden moedermelkstalen verzameld en deze werden verdeeld in twee groepen op basis van de leeftijd van de moeders (groep 1: 18-26 jaar, groep 2: 27-30 jaar). Hierdoor werden uiteindelijk 22 mengstalen verkregen. Tabel 1 geeft een overzicht van het aantal individuen waaruit de mengstalen zijn samengesteld.

**Tabel 1.** Overzicht van het aantal individuele moedermelkstalen waaruit de mengstalen zijn samengesteld voor 10 provincies en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest.

	Groep 1	Groep 2
Gebied	18-26 jaar	27-30 jaar
Antwerpen	14	12
Oost VL	7	13
West VI	7	6
Limburg	3	6
VI Brabant	6	9
W Brabant	3	6
Luxemburg	4	3
Namen	6	1
Luik	7	10
Henegouwen	16	7
Brussel	7	10



### **3.3 Staalvoorbereiding**

#### **3.3.1 Staalbewaring**

De voedselitems werden na aankoop ingevroren in diepvrieszakjes bij -20°C. Eieren en melk werden ingevroren in polypropyleen tubes van 50 mL. De serumstalen en moedermelkstalen waren reeds ingevroren bij -20°C en de pools werden opnieuw ingevroren bij -20°C in polypropyleen tubes van 25 mL.

#### **3.3.2 Homogenisatie**

Deze paragraaf is enkel van toepassing op “vaste” stalen, zoals groente- en fruitstalen. Vloeibare matrices, zoals melk, serum en bier, hoeven de onderstaande homogenisatieprocedure niet te ondergaan. De ingevroren voedselitems werden ontdooid bij kamertemperatuur. De aardappelen en de uien werden geschild. Bij prei werden de buitenste bladeren, het uiteinde van de groene bladeren en de wortel verwijderd. Appels en wortels werden niet geschild maar enkel gewassen met leidingwater. Voor sla werd gebruik gemaakt van een slazwierder om het overtollige water te verwijderen. Elk item werd met behulp van een nieuw scalpelmes in twee gelijke delen verdeeld. De gehalveerde stalen bedoeld voor analyse van vlamvertragers en deze voor de analyse van perfluorverbindingen werden op afzonderlijke wijze gehomogeniseerd ter voorkoming van contaminatie van de perfluorstalen. Deze laatsten mogen immers niet in contact komen met teflonhoudende producten.

#### **3.3.3 Verdere staalvoorbereiding voor de analyse van de gebromeerde vlamvertragers.**

De ontdooidde stalen voor analyse van vlamvertragers worden gehomogeniseerd m.b.v. een eenvoudige keukenrobot. Elk onderdeel van het toestel wordt grondig gereinigd met water en met hexaan tussen de homogenisatie van de verschillende stalen.

Na homogenisatie worden groenten en fruit gedurende enkele dagen (afhankelijk van de hoeveelheid staal) gevriesdroogd om het aanwezige vocht te verwijderen. Stof- en serumstalen behoeven geen speciale behandeling en worden bij -20°C bewaard tot analyse.

*Groenten en fruit.* Ongeveer 8 g gevriesdroogd poeder wordt afgewogen in een gewassen extractiethimble. Na toevoegen van de inwendige standaarden (5 ng <sup>13</sup>C-BDE 209, 1 ng BDE 77/128) ondergaan de stalen een extractieprocedure met hot Soxhlet gedurende 2 uur met 100 ml hexaan:aceton (3:1, v/v) als extractiesolvent. Opzuivering van de extracten gebeurt m.b.v. vloeistof-vloeistofextractie met geconcentreerd zwavelzuur (96%). Hierbij wordt 1ml hex:DCM (1:1) en 1 ml geconcentreerd zwavelzuur aan het extract toegevoegd en gedurende

2 min gevortexed. Na 5 min centrifugeren wordt de bovenstaande hexaanlaag over de cartridge met zure silica gebracht. Om alle analieten uit de polaire matrix te verwijderen wordt deze procedure nog tweemaal herhaald maar deze keer met additie van 2 ml hex:DCM en slechts 0.5 ml zwavelzuur. Cartridges (gevuld met 8 g zure silica (44% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, w/w)) worden geëluëerd met 15 ml hexaan en 15 ml dichloormethaan (DCM). De opgezuiverde extracten worden vervolgens drooggedampt onder een N<sub>2</sub>-stroom. De analieten worden daarna heropgelost in 100 µl iso-octaan.

*Vlees, vis en eieren.* De homogenaten (1-5 g) worden zorgvuldig afgewogen en gemengd met gewassen anhydrisch natriumsulfaat in met hexaan gespoelde mortiers om het aanwezige water te verwijderen. Dit mengsel wordt overgebracht in gewassen extractiethimbles. Na toevoegen van de inwendige standaarden (5 ng <sup>13</sup>C-BDE 209, 1 ng BDE 77/128) ondergaan de stalen een extractieprocedure met hot Soxhlet gedurende 2 uur met 100 ml hexaan:aceton (3:1, v/v) als extractiesolvent. Een gravimetrische vetbepaling wordt uitgevoerd terwijl de rest van het extract met behulp van zure silica wordt opgezuiverd zoals hierboven beschreven.

*Stofstalen.* Na het afwegen van ongeveer 0.2 g gezeefd (500 µm) stof in gewassen extractiethimbles en het toevoegen van de standaarden (10 ng <sup>13</sup>C-BDE 209, 10 ng BDE 77, 10 ng PCB 143, 25 ng <sup>13</sup>C- $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -HBCD), verloopt de extractie met hot Soxhlet en opzuivering m.b.v. zure silica identiek aan de vorige matrices.

*Serumstalen.* De inwendige standaarden (5 ng <sup>13</sup>C-BDE 209, 1 ng BDE 77, 10 ng PCB 143, 7.5 ng <sup>13</sup>C- $\alpha$ -HBCD) worden in proefbuizen gebracht, drooggedampt en heropgelost in aceton. Vervolgens wordt 2 ml Milli-Q water aan de proefbuizen toegevoegd om de vluchtigheid van aceton te verminderen en het neerslaan van de proteïnen na de additie van het serum te voorkomen. Vervolgens wordt 3-4 ml serum in de proefbuis gebracht. 1 ml Milli-Q water wordt toegevoegd ter verdunning van het serum. De eiwitten worden gedenatureerd door de additie van 1 ml mierenzuur en sonificatie gedurende 20 minuten. Achtereenvolgens wordt de SPE (solid phase extractie) en de clean up van het serum uitgevoerd. SPE wordt uitgevoerd m.b.v Oasis HLB kolommen (Waters, 500mg, 6 ml) die voorafgaand gewassen en geconditioneerd moeten worden (4 ml DCM, 4 ml methanol en 4 ml Milli-Q water). Het voorbereide serum wordt, zonder het uitoefenen van druk, op de geconditioneerde kolommen gebracht. De kolom wordt gewassen met 4 ml Milli-Q water, daarna gedroogd gedurende 30 min onder vacuum om alle resten Milli-Q water te

verwijderen. Uiteindelijk worden de analieten in een proefbuis geëluëerd met 3x3 ml DCM. Het extract wordt aangeconcentreerd tot ongeveer 0.5 ml onder voortdurende verwarmen en N<sub>2</sub>-stroom. De extracten worden overgebracht naar 3 ml kolommen gevuld met zure silica (44%), geactiveerde silica en NaSO<sub>4</sub>. De kolommen worden gewassen met 2 ml DCM en geëluëerd met 6 ml Hex-DCM (1-1) en 2 ml DCM. De extracten worden drooggedampt onder verwarmen en N<sub>2</sub>- stroom en heropgelost in 100 µl iso-octaan.

### 3.3.4 Verdere staalvoorbereiding voor de analyse van de perfluorverbindingen.

#### **3.3.4.1 Extractie**

*Voedingsstalen.* De ontdooide groenten- en fruitstalen worden gehomogeniseerd met behulp van een sapcentrifuge of een klassieke keukenmixer. De pulp en het sap worden na het centrifugeren terug samengevoegd. Elk onderdeel van de toestellen wordt grondig gereinigd met water en met acetonitrile tussen de homogenisatie van de verschillende stalen. Per staal wordt er ongeveer 1 gram afgewogen in een polypropyleen-centrifuge tube van 50 ml. Voor vlees- en visstalen wordt gebruik gemaakt van een klassieke keukenmixer (Braun).

Aan het gehomogeniseerde staal wordt acetonitrile (10 mL) toegevoegd. Aan elk staal wordt vervolgens 10 ng van elke interne standaard (<sup>13</sup>C-PFHxS, <sup>13</sup>C-PFOS, <sup>13</sup>C-PFBA, <sup>13</sup>C-PFHxA, <sup>13</sup>C-PFOA, <sup>13</sup>C-PFNA, <sup>13</sup>C-PFDA ) toegevoegd. De stalen worden geschud en gevortexed vooraleer ze drie keer in een ultrasoon bad te plaatsen gedurende 10 minuten. Tussen elke beurt worden de stalen gevortexed. Na het ultrasone bad worden de stalen gedurende 5 minuten gecentrifugeerd (Avanti, California, USA (2000 rpm, 7 °C)). Het supernatans wordt ingedampt tot 1 ml (warmwaterbad en stikstof-flow) en vervolgens verder opgezuiverd (zie 3.2.4.2 Clean-up).

*Stofstalen.* De extractieprocedure is identiek aan de procedure van de voedingsstalen met uitzondering van de hoeveelheid geëxtraheerd staal. Voor stof wordt er ongeveer 0,5 g genomen in tegenstelling tot voedingsstalen waar er 1g wordt geanalyseerd.

*Serum en moedermelkstalen.* Ontdooide stalen worden geëxtraheerd met vaste fase extractie (solid-phase extraction). Aan 0,5 ml serum wordt 10 ng van elke gelabelde standaard (zie voedingsstalen) en 2 ml mierenzuur/water (1/1 verhouding) toegevoegd. Na de stalen te vortexen worden ze gedurende 15 min in een ultrasoonbad geplaatst. Daarna worden ze gecentrifugeerd (4000 g, 30 min). Er wordt gebruik gemaakt van Oasis WAX cartridges (3 cc, Waters) aangesloten aan een vacuümpomp. Deze kolommen worden eerst geconditioneerd

met 2 ml acetonitrile en 2 ml 'reversed osmose water'. De doorstromsnelheid bedraagt ongeveer 2 druppels per seconde. Na het conditioneren wordt de vloeistof verkregen na centrifugatie aangebracht op de kolommen. Vervolgens worden de kolommen gewassen met 2 ml 40% acetonitrile en geëluëerd met 1 ml 2% ammoniumhydroxide. Het uiteindelijke extract (1 ml) is dan klaar voor de filtratie.

*Water- en bierstalen.* De water- en bierstalen worden eveneens geëxtraheerd m.b.v. de vaste-fase extractie methode. Het staal wordt overgebracht in een erlenmeyer (met slijpstuk) waaraan koolstof-gelabelde standaarden worden toegevoegd. Aan de onderkant van de glazen kolom wordt een C 18 SPE cartridge geklemd. Deze cartridge wordt geconditioneerd door het te elueren met achtereenvolgens 10 ml acetonitrile en 10 ml 'reversed osmose water'. De te analyseren vloeistof wordt op de kolom gebracht. De doorstromsnelheid bedraagt ongeveer 2 druppels per seconde. Het eluens kan worden weggegooid. Vervolgens wordt de kolom gespoeld met 10 ml acetonitrile. Deze vloeistof wordt opgevangen in een 30 ml PP tube en ingedampt onder stikstof tot 0,5 ml. Het staal wordt gefilterd, de filter zelf wordt nogmaals gespoeld met 1 ml acetonitrile en de PP buis wordt ook nog nagespoeld met 0,5 ml acetonitrile.

#### **3.3.4.2. Clean-up**

Alle stalen die geëxtraheerd worden met de solvent-extractie methode (groenten, fruit, vlees, vis-, ei-, en stofstalen) vereisen een extra zuiveringsstap. Deze zuivering is niet nodig voor de stalen die met de vaste fase extractiemethode worden geëxtraheerd (water, bier, melk en serum). Om de stalen te zuiveren worden er Eppendorf tubes van 1,7 ml gevuld met ongeveer 25 mg actieve koolstof (ENVI-Carb 120/400; Supelco, Bellefonte, USA). Hierbij wordt 50 µl azijnzuur toegevoegd. De actieve koolstof bindt aan organische stoffen met een lipofiel karakter waardoor deze zullen neerslaan. Door toevoegen van het azijnzuur daalt de pH waardoor de perfluoralkylverbindingen niet meer zullen binden aan de koolstof. Van het supernatans (verkregen uit stap 2) wordt 1 ml overgebracht in de eppendorf tubes. Na stevig schudden en vortexen van de stalen worden ze in een eppendorf AG 5415R centrifuge (Hamburg, Duitsland) geplaatst (10 000 rpm, 10 min, 7 °C). Van het verkregen supernatans wordt 500 µL overgebracht in een nieuwe eppendorf-tube. Indien na de eerste zuivering geen kleurloos extract verkregen wordt, wordt dit nogmaals herhaald. Een tweede zuiveringsstap is noodzakelijk bij binnenhuisstofstalen en bij sterk gepigmenteerde groenten (bv. groen van een prei) en eieren. De gezuiverde extracten worden bewaard bij -20 °C tot de analyse.

### **3.4 Analyse**

#### **3.4.1 Analyse van de gebromeerde vlamvertragers**

**GC-MS.** De bestaande methode is gebaseerd op gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS). De analyses worden uitgevoerd met een Agilent 6890 GC (Palo Alto, U.S.A.) direct verbonden met een Agilent 5973 massaspectrometer. PBDE-congeneren 28, 47, 99, 100, 153, 154, en 183 worden gescheiden met behulp van een 25m x 0.22mm x 0.25 $\mu$ m HT-8 capillaire kolom (SGE, Belgium). Helium wordt gebruikt als dragergas, met een constante stroomsnelheid van 1,0 mL/min. De temperatuursgeprogrammeerde oven heeft een begintemperatuur van 90°C, gedurende 1,5 min, waarna de temperatuur wordt opgedreven met 30°C/min tot 180°C, gedurende 0,5 min, vervolgens een tweede stijging aan 5°C/min tot 270°C, gedurende 0.5 min, en uiteindelijk aan 25 °C/min tot 290°C, gedurende 15 min. Eén  $\mu$ l van het extract wordt geïnjecteerd in de temperatuursgeprogrammeerde PTV-injector. De injector wordt ingesteld in solvent vent modus (injector temperatuur: 90 °C, gedurende 0,05 min, daarna een stijging met 700°C/min tot 280 °C, gedurende 25 min; vent flow wordt vastgesteld op 100 mL/min en de purge vent wordt geopend na 1,5 min). De massaspectrometer (in electron capture negative ionization (ECNI)) loopt in selected ion-monitoring (SIM) modus met gemonitorde ionen  $m/z$  79 en 81. Voor de analyse van BDE 209 werd een 15m x 0,18mm x 0,10 $\mu$ m AT-5 (Alltech, Lokeren, Belgium) capillaire kolom gebruikt. In latere experimenten werd een 15m x 0,25mm x 0,10 $\mu$ m DB-5 (J&W Scientific, Folsom, Ca, USA) capillaire kolom gebruikt. Helium was het dragergas met een constante stroomsnelheid van 2,0 mL/min. De oventemperatuur start bij 90°C en wordt gedurende 1min35sec op deze temperatuur gehouden. Deze wordt vervolgens opgedreven aan 75°C/min tot 305°C. Deze eindtemperatuur wordt gedurende 7min50sec volgehouden waarna de run is afgelopen en de oven terugkeert naar zijn begintemperatuur. Eén  $\mu$ l van het extract werd geïnjecteerd in een PTV. De injector is ook hier ingesteld in solvent vent modus (injector temperatuur: 90°C, welke gedurende 6sec constant wordt gehouden, waarna de temperatuur wordt opgedreven aan 700°C/min tot 310°C, welke gedurende 12 min constant wordt gehouden). De massaspectrometer is ingesteld in ECNI in SIM modus met  $m/z$  484,7/486,7 en 494,7/496,7 voor BDE 209 and <sup>13</sup>C-BDE 209, respectievelijk. Voor alle kolommen wordt methaan gebruikt als moderating gas, en de ionenbron, quadropole, en interface temperaturen bedragen 250, 150, en 300°C, respectievelijk. Dwell tijden werden vastgelegd op 30 ms voor PBDE analyse met de 25 m kolom en op 100 ms voor de analyse van BDE 209.

**LC-MS.** Scheiding van TBBP-A,  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ - HBCD werd uitgevoerd met behulp van een duo pomp Agilent 1100 Serie vloeistofchromatograaf met automatische injectie en vacuüm ontgasser. Een Agilent Zorbax C<sub>18</sub> omgekeerde fase analytische kolom (50 mm x 2,1 mm interne diameter, 3,5  $\mu$ m deeltjesgrootte) werd gebruikt. Een mobiele fase van (a) water en (b) methanol aan een flow van 200  $\mu$ L/min werd gebruikt voor elutie van TBBP-A en HBCD isomeren; beginnend met 75% (b) vervolgens lineair stijgend tot 100% (b) in 7 min; deze conditie werd gedurende 12 min aangehouden, gevolgd door een lineaire afname tot 75% (b) in 0,5 min en aagehouden gedurende 10 min. De analieten werden gescheiden tot op de basislijn met volgende retentietijden van 3,0, 7,0, 7,5, 7,8 min voor TBBP-A,  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -HBCD, respectievelijk. Massaspectrometrische analyse werd uitgevoerd met een Agilent 6410 triple quadrupole massaspectrometer, ingesteld in ES negatieve ion mode. MS/MS detectie gebeurde in MRM mode voor de kwantitatieve bepaling van de HBCD isomeren gebaseerd op m/z 640,6  $\rightarrow$  m/z 79 en m/z 652,6  $\rightarrow$  m/z 79 voor de <sup>12</sup>C en <sup>13</sup>C-gelabelde diastereomeren, respectievelijk.

Detecteerbaar, maar zeer lage concentraties (typisch 0,1-0,4 ng individuele HBCD isomeren) werden waargenomen in procedureblanco's (n= 6). Concentraties in stalen werden gecorrigeerd voor de blancowaarden. Kwantificatielimiten van de methode voor individuele diastereomeren werden berekend op basis van de procedureblanco's en op de hoeveelheid staal, ongeveer 5 ng/g. De accuraatheid en precisie van de analytische methode werd nagegaan aan de hand van herhaalde analyse (n=3) van SRM 2585. De bekomen waarden weken minder dan 15% af van de waarden bekomen door Abdallah *et al.* (2008).

#### 3.4.2 Analyse van de perfluorverbindingen

Alvorens de stalen geïnjecteerd worden, moeten ze gefilterd worden. Voor de filtratie wordt gebruik gemaakt van 0,01 ml/1,0 ml spuitjes (Braun, Meslungen, Duitsland) waarop een filter (Acrodisc filter, doorsnede 0,2  $\mu$ m Supor Membrane Ion Chromatography Certified) werd aangebracht. Zeventig  $\mu$ l extract wordt verdund met 130  $\mu$ l reversed osmose water.

*UPLC-MSMS (Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry).*

De gebruikte auto-injector flesjes voor de UPLC worden afgesloten met een dekseltje dat geen septum (PFTE-contaminatie) bezit maar is voorgesneden. Deze aanpassingen (septum of voorgesneden) aan de flesjes zijn noodzakelijk om de injectornaald van de UPLC niet te beschadigen.

De PFC-metingen gebeuren met een UPLC (ACQUITY, Waters, USA) die verbonden is met een tandem massa spectrometer (ACQUITY, TQD, Waters, USA). De analyses worden

uitgevoerd met een ACQUITY BEH C18 kolom (2,1 x 50mm, partikelgrootte 1,7 $\mu$ m, Waters, USA) met een stroomsnelheid van 0,45 ml/min en een injectievolume van 10  $\mu$ l. De mobiele fase bestaat uit acetonitrile met 0,1% mierenzuur en 'reversed osmose water' eveneens met 0,1% mierenzuur. Een elutiegradiënt wordt gebruikt beginnend bij 65% water en gaande naar 10% in 3 min. Na 4,7 minuten worden de aanvankelijke voorwaarden hervat. De kolomtemperatuur bedraagt 60°C en er wordt om de 40 ms gemeten. Het ES-Capillaire voltage wordt ingesteld op 0,4 kV, het voltage van de kegel op 23 V en de brontemperatuur bedraagt 120 °C.

Voor zowel de gebromeerde vlamvertragers als voor de perfluorcomponenten geldt dat de concentraties in de stalen gecorrigeerd werden voor de blancowaarden.

De kwantificatielimiet LOQ (limit of quantitation) wordt berekend als driemaal de standaarddeviatie van de gemiddelde blancowaarde. Per batch stalen worden steeds blancostalen meegenomen waarop de LOQ-waarde gebaseerd wordt. Indien de component ook detecteerbaar was in de blancostalen dan wordt deze waarde van de gemeten waarden afgetrokken.

#### ***4. Resultaten en bespreking van de metingen***

Wat de statistische verwerking van de resultaten van de voedselstalen betreft moeten we zeer omzichtig te werk gaan. Binnen de huidige studie kon slechts een beperkt aantal stalen bemonsterd en geanalyseerd worden. Statistische vergelijking tussen afzonderlijke voedselitems van klassieke en biologische teelt was daarom niet mogelijk omwille van het beperkt aantal replicaten. Per voedselsoort en per teeltwijze werden immers maar 3 stalen bemonsterd. Met behulp van een niet-parametrische gepaarde t-test (Wilcoxon matched pair test) kon wel voor de mediaan en maximaal gemeten waarden van de verschillende componenten voor alle voedselsoorten tegelijk (14 in totaal) worden nagegaan of er significante verschillen zijn tussen biologisch geteelde en niet-biologisch geteelde voeding. Wat de perfluorverbindingen betreft, was er echter voor een aantal matrices nog grote onzekerheid over de representativiteit van de analyseresultaten. In een aantal gevallen/matrices was tijdens de ringtest de variatie in gemeten gehalten in verschillende extracties van hetzelfde staal hoog tot zeer hoog te noemen (zie fase 1). Hierdoor konden we wat de PFCs betreft geen besluiten trekken wat de verschillen tussen bio en niet-bio betreft en zijn de statistische resultaten louter indicatief.

Wat de stofstalen betreft waren de resultaten van de ringtest (fase 1) wel bevredigend. Conclusies op basis van de statistiek zijn daarom voor zowel BFRs als PFCs.

Voor stofstalen werden, op basis van de vragenlijsten ingevuld tijdens de stofopnames, de huizen op twee verschillende manieren gegroepeerd in een klein aantal groepen en werd dan met behulp van statistische testen nagegaan of er significante verschillen waren. In de eerste plaats werd een onderscheid gemaakt tussen woningen met veel, gemiddeld en weinig of geen tapijten en gordijnen. Deze indeling kon uitsluitend subjectief gebeuren vermits de oppervlakte aan tapijten of hoeveelheid gordijnen niet gekwantificeerd werd. Een tweede opdeling van alle huizen gebeurde op basis van de aanwezige elektronische apparatuur. Dit kon op een objectievere manier gebeuren vermits er informatie beschikbaar was over het aantal apparaten. De vragenlijst omvat de aanwezigheid van huishoudelijke apparaten en toestellen zoals televisietoestel, computers (draagbaar en vast), printer, stereo, DVD/video, klokradio, microgolfoven, broodrooster, koffiezet, spelcomputer, broodmachine, zonnepaneel, keyboard en elektrische verwarmingstoestellen. Huishoudelijke toestellen zoals koelkast en diepvries werden niet in de berekening opgenomen omdat ze in elke woning aanwezig waren. De som van toestellen in de verschillende woningen, vertoont een gaussiaanse distributie, zonder de aanwezigheid van outliers. Dit stelt ons in staat de woningen in drie groepen onder



te verdelen nl. veel (25% woningen), gemiddeld (50% woningen) en weinig (25% woningen) elektronische toestellen. De eerste groep bevatte meer dan 12 toestellen, de tweede groep tussen 8 en 12 toestellen en de derde groep bevatte minder dan 8 toestellen. Tenslotte werden ook drie groepen gemaakt met een combinatie van elektronische apparaten en tapijten/gordijnen: (1) veel van beide; (2) gemiddeld van beide of (3) weinig van beide. Bij deze combinatie waren de aantallen echter klein (n=4, 12 en 4 respectievelijk). Met behulp van een niet-parametrische ANOVA (Kruskal Wallis test) werd er nagegaan of er statistisch significante verschillen aantoonbaar waren in de componentconcentraties tussen de drie groepen. Bijkomend werd nagegaan of de extremen significant van elkaar verschilden; namelijk woningen met veel versus woningen met weinig gordijnen-tapijten en/of elektronische apparaten. Dit werd dan steeds twee aan twee vergeleken met behulp van een niet-parametrische t-test (Mann-Whitney U test).

#### **4.1 Resultaten van de validatiefase**

Voor een uitgebreide bespreking van de validatiefase wordt verwezen naar deelrapport I. Nochtans is het belangrijk dat hier kort de resultaten van de miniringtest voor de PFCs tussen de UA en de UvA besproken worden. De resultaten van deze ringtesten toonden duidelijk aan dat de analyse van PFOS en PFOA in plasma- en serumstalen aan de UA betrouwbare resultaten oplevert. De z-scores lagen voor alle ringtesten tussen -2 en 2 (criteria voor aanvaardbare resultaten). Hieruit bleek dat PFOS en PFOA in serum op een betrouwbare en herhaalbare manier kan gemeten worden aan de UA.

Voor een aantal voedselitems echter was de variatie voor bepaalde PFCs in de ringtest hoog tot zeer hoog (bijvoorbeeld PFOS in aardappel, PFBA in prei, PFOS in eieren). Gezien het beperkte karakter van de ringtest is het moeilijk om uitspraak te doen over de betrouwbaarheid van de resultaten. Zoals hierboven vermeld moet het mogelijk zijn om de variatie te verkleinen. Hiervoor moet echter deelgenomen worden aan brede internationale ringtesten voor nieuwe matrices. Deze grote variatie betekent in ieder geval dat zeer omzichtig moet worden omgesprongen met de interpretatie van de resultaten van de PFCs in voeding. Bovendien heeft dit belangrijke gevolgen voor de risico-inschatting van PFCs (zie deelrapport III en hoofdstuk 6 in dit rapport). Het aandeel van voedsel in de opname van PFCs is nog grotendeels onzeker.

## 4.2 Resultaten voor de gebromeerde vlamvertragers

In deze paragraaf wordt een overzicht gegeven van de resultaten van gebromeerde vlamvertragers in zowel de voedingsstalen als in de stofstalen die in het kader van dit project verzameld werden. De aanwezigheid van BDE-congeneren wordt besproken voor de som tri-hepta congenen afzonderlijk van BDE 209. De reden hiervoor is de hogere aanwezigheid van BDE 209 in de blanco's en de lage gevoeligheid van de metingen, die aldus de LOQ van de som beïnvloedt. Door deze congener afzonderlijk te bespreken, kunnen we een veel lagere detectielimiet voor de andere congenen bekomen. Er zal een korte bespreking gegeven worden van de BDE-profielen.

Worden in onderstaande tabellen concentraties vermeld als '< x', dan liggen deze concentraties onder de berekende LOQ-waarde, die telkens ingevuld zal zijn in de tabel (x). Voor de som van tri-hepta BDE's en voor de totale som BDE's moeten de waarden die onder de LOQ liggen vervangen worden door een alternatieve waarde. Hiervoor worden de LOQ waarden met een factor 'p' vermenigvuldigd. Deze factor staat gelijk aan het aantal stalen dat boven de LOQ ligt ten opzicht van het totale aantal stalen. Hierdoor zullen 'non detects' in een hele batch van stalen beneden de LOQ slechts vervangen worden door een kleine waarde terwijl een sporadische 'non-detect' in een batch waar bijna alle stalen zich boven de LOQ bevinden, vervangen worden door een hogere waarde.

### 4.2.1 Voedselstalen

Hieronder wordt een samenvatting gegeven van alle verkregen resultaten (tabel 2). Deze resultaten werden voor PBDE's, zoals eerder vermeld, opgesplitst in de tri-hepta congenen enerzijds en de bespreking van congener 209 anderzijds. Deze opsplitsing werd zowel toegepast voor stalen van biologische als van klassieke oorsprong. Per categorie (groenten, vlees, vis,...) wordt een korte bespreking van de resultaten gegeven. Vis- en stofstalen worden afzonderlijk besproken daar hun oorsprong niet volgens klassieke of biologische oorsprong kan ingedeeld worden. Gezien weinig wetenschappelijke studies rapporteren over de aanwezigheid van BFRs in voedingsstalen is een correcte vergelijking met de absolute resultaten verkregen in het kader van huidige studie niet altijd mogelijk. Onderstaande vergelijking is bijgevolg een eerste ruwe inschatting.

De mediane waarden voor  $\Sigma$ tri-hepta BDE's in alle **groente- en fruitstalen** lagen tussen 0,4 – 12 pg/g versgewicht. Dit is licht hoger in vergelijking met Spaanse waarden (Bocio *et al.*, 2003 en Gomora *et al.*, 2006) waar voor groenten een PBDE-waarde van 8 pg/g versgewicht en voor fruit 6 pg/g versgewicht gerapporteerd werden. Mediane concentratie van BDE 209

lag onder LOQ in alle biologische stalen. Enkel in appel, witloof en sla van klassieke oorsprong kon BDE 209 boven LOQ waargenomen worden. De mediane waarden reiken tussen 41 en 62 pg/ g vetgewicht, wat hoger is dan de som tri-hepta congenen. BDE 209 werd niet afzonderlijk gerapporteerd in fruit en/of groenten in buitenlandse literatuur, wat vergelijken onmogelijk maakt. Wanneer BDE 209 gedetecteerd kon worden, lijkt het de meest belangrijke congener. Mediane waarden voor  $\Sigma$ HBCDs in groenten en fruit lagen in alle stalen beneden de kwantificatielimiet, zowel voor klassieke als voor biologische teelt. In enkele replicaten, o.a. van prei, sla, tomaat en appel werden wel HBCD-gehalten gedetecteerd. De concentraties voor tri-hepta BDE's in **kippeneieren** lagen tussen 4 en 125 pg/g vetgewicht (mediaan 4 en 26 voor respectievelijk biologisch en klassiek). BDE 209 concentraties variëren van <41 tot 195 pg/g vetgewicht. Concentratie van  $\Sigma$ tri-hepta congenen in eieren van zowel klassieke als biologische teelt lagen lager dan deze gerapporteerd in andere studies, met een gemiddelde Spaanse waarde van 530 pg/g vetgewicht (Bocio *et al.*, 2003 en Gomora *et al.*, 2006) en een gemiddelde Belgische waarde van 1000 pg/g vetgewicht (Voorspoels *et al.* 2007). Het grote verschil tussen deze waarden en die in de huidige studie is mogelijk te wijten aan de kleine steekproef. Voor HBCD varieert de concentratie van 2-22 pg/g vetgewicht.

Zowel wat betreft de klassieke als de biologische stalen, werden in **vleesstalen** de hoogste PBDE-concentraties gevonden (Tabel 2).  $\Sigma$ tri-hepta congenen in de gemeten stalen vleesstalen lagen tot tweemaal hoger dan eerder gerapporteerde in Spanje (250 – 597 pg/ vetgewicht (Bocio *et al.*, 2003 en Gomora *et al.*, 2006). Mediane BDE 209-waarden lagen in alle stalen beneden de kwantificatielimiet. Hetzelfde gold voor de  $\Sigma$ HBCDs behalve in rundstalen van biologische oorsprong.

**Tabel 2.** Overzicht van PBDE en HBCD concentraties in voedingsstalen. Vergelijking tussen biologisch geteeld en niet-biologisch geteeld voedsel (met n=3).

	Tri-hepta BDE's		BDE 209		Som HBCD's	
	klassiek	biologisch	klassiek	biologisch	klassiek	biologisch
<b>Groenten (pg/g ww)</b>	Range (mediaan)		Range (mediaan)		Range (mediaan)	
Ui	2-5 (3)	0,4-1 (0,4)	<41 (<41)	<41 (<41)	<6 (<6)	<6 (<6)
Wortel	2-6 (2)	0,4-15 (5)	<41-121 (<41)	<41-151 (<41)	<6 (<6)	<6 (<6)
Prei	2-4 (3)	2-8 (5)	<41 (<41)	<41-200 (<41)	<6 (<6)	<6-7 (<6)
Sla	4-10 (6)	0,4-2 (0,8)	<41-56 (41)	<41 (<41)	<6-24 (<6)	<6 (<6)
Tomaat	2-13 (12)	0,4-6 (0,4)	<41 (<41)	<41 (<41)	<6-11 (<6)	<6-24 (<6)
Aardappel	4-5 (4)	0,6-8 (6)	<41-41 (<41)	<41 (<41)	<6 (<6)	<6 (<6)
Witloof	1 (1)	2-5 (4)	44-139 (62)	<41 (<41)	<6 (<6)	<6 (<6)
Appel	0,4-30 (8)	2-8 (3)	<41-91 (53)	<41 (<41)	<6 (<6)	<6-16 (<6)
Tarwe	56-76 (66)	31-32 (31)	< 2400	< 2400	< 130	< 130
<b>Eieren (pg/g lw)</b>						
ei (vet: klassiek 13%, biologisch 18%)	8-125 (26)	4-64 (4)	<41-195 (102)	<41 (<41)	<6 (<6)	2-22 (2)
<b>Vlees (pg/g lw)</b>						
kip (vet: klassiek 1%, biologisch 12%)	133-934 (371)	149-578 (364)	<41 (<41)	<9 (<9)	<139-666 (<139)	<400 (<400)
rund (vet: klassiek 1%, biologisch 2%)	64-4936 (64)	918-3182 (2318)	<41 (<41)	<9 (<9)	<139-4191 (<139)	400-6000 (900)
varken (vet: klassiek 6%, biologisch 3%)	70-578 (329)	686-2685 (1302)	<41 (<41)	<9-120 (<9)	<139 (<139)	<400-600 (<400)
<b>Melk (pg/g lw)</b>						
koemelk (vet: klassiek 16%, biologisch 16%)	150-250 (227)	9-30 (29)	<3200-3300 (<3200)	<3200 (<3200)	<147-200 (<147)	<147 (<147)

Tri-hepta BDE's is de som van BDE 47, 99, 100, 154, 153, 183, 197, 196 en 203

Tri-hepta-BDE's concentraties in koemelk (Tabel 2.) lagen lager dan bij studies in Spanje met 630 pg/g vetgewicht (Bocio *et al.*, 2003 en Gomora *et al.*, 2006). Mediane waarden voor BDE 209 en ΣHBCDs lagen onder LOQ voor zowel melk van klassieke als biologische oorsprong.

Met behulp van een niet-parametrische gepaarde t-test (Wilcoxon matched pairs test) werd een vergelijking gemaakt tussen de voedselstalen van klassieke en biologische oorsprong. Dit werd zowel voor de mediaan waarden als voor de maximaal gemeten waarden vergeleken. In geen van de gevallen werd een significant verschil gevonden tussen de gehalten in klassieke voeding met de gehalten in biologische voeding. Er werd zowel voor alle voedselitems tesamen getest (n=14) als apart voor groenten en fruit (n=9) en voor dierlijke producten (n=5). Om echter een betrouwbare uitspraak te doen over een mogelijk verschil tussen bio-landbouw en klassieke landbouw moeten veel meer stalen worden genomen.

De BFR-resultaten van de **visstalen** staan samengevat in tabel 3. De verzamelde vissoorten waren afkomstig uit de Noordzee en werden verzameld tijdens een expeditie met het onderzoeksschip 'De Zeeleeuw'. De vissen werden gefileerd en het spierweefsel werd gehomogeniseerd per vissoort. BDE 47 had in de visstalen de grootste bijdrage tot de tri-hepta PBDE contaminatie (61%), gevolgd door BDE 154 (34%) en BDE 100 (19%). BDE 209 ligt veelal onder LOQ. ΣHBCDs werden niet gedetecteerd in enkele kabeljauw- en botstalen, maar concentraties lagen boven LOQ in alle andere visstalen. Zowel tri-hepta BDEs als ΣHBCDs waren aanwezig in hogere concentraties vergeleken met de andere voedingsgroepen met een mediaan bereik tussen 13 – 89 ng/g vetgewicht voor tri-hepta BDE's en tussen <LOQ – 70 ng/g vetgewicht voor ΣHBCD's. Weerom lijken de tri-hepta congenere verantwoordelijk voor de grootste contaminatie. Σtri-hepta congenere lagen lager in vergelijking met Amerikaanse stalen (275 – 414 ng/g vetgewicht) (Schechter *et al.*, 2008) en zeer laag in vergelijking met Spaanse stalen (4700 ng/g vetgewicht) (Bocio *et al.*, 2003 en Gomora *et al.*, 2006) en andere Belgische stalen (3500 ng/g vetgewicht) (Voorspoels *et al.* 2007). Deze studies omvatten een aantal vissoorten, net zoals de huidige studie. Deze vissoorten komen niet volledig overeen, daarom werden de resultaten allemaal genormaliseerd voor het vetgehalte. Paling bevatte de hoogste BFR-concentraties. Een mogelijke verklaring voor de hoge gehalten in paling is het feit dat het een vette vissoort betreft en BFRs lipofiel zijn. Bovendien werden de gehalten gemeten in het zoetwaterstadium van de paling. Uit een eerdere studie bleek reeds dat de gehalten in vissen en ongewervelden in de Schelde stroomafwaarts afnemen, wat waarschijnlijk aan verdunning te wijten is, naarmate men dichterbij de zee bemonsterd (Voorspoels *et al.*, 2003).

**Tabel 3.** Overzicht PBDE en HBCD concentraties in vissoorten (ng/g lw) uit de Noordzee.

ng/g lw	Vet (%)	Tri-hepta BDE's	BDE 209	Som HBCD's
		range (mediaan)	range (mediaan)	range (mediaan)
kabeljauw	0,5	10-24 (13)	< 35 (< 35)	<1-2 (<1)
wijting	0,5	19-56 (35)	< 35 (< 35)	1-5 (3)
steenbolk	0,5	20-80 (50)	5-67 (36)	2-12 (7)
haring	1	16-145 (80)	5-56 (< 35)	7-35 (21)
sprot	1	52	< 35	20
schar	2	11-31 (20)	<35 (< 35)	<1-3 (2)
bot	0,5	17-57 (22)	5-65 (< 35)	<1-12 (<1)
paling	10,5	29-5811 (89)	<10-17 (11)	69-18162 (70)

Tri-hepta BDE's is de som van BDE 47, 99, 100, 154, 153, 183, 197, 196 en 203. lw= lipid weight

Wat de **bierstalen** betreft werden in totaal drie biologische en drie klassieke biersoorten onderzocht op hun gehalte aan BFRs (PBDE's en HBCD's). Zowel de tri-hepta congenen als BDE 209 lagen onder LOQ (met LOQ = 0,5-5 pg/ml). Ook HBCD werd in geen enkele staal gedetecteerd (met LOQ = 2 pg/ml). Leidingwater werd in het kader van dit project niet geanalyseerd voor BFRs, maar eerder onderzoek aan de Universiteit Antwerpen rapporteerde waarden onder LOQ.

#### 4.1.2. Stofstalen

De resultaten van de stofstalen worden samengevat in tabel 4. Zowel in woningen als in kantoren was de belangrijkste PBDE congener BDE209. In de woningen droeg hij 85% bij tot de totale PBDE-concentratie, in kantoren slechts 50%.

**Tabel 4.** Overzicht PBDE en som HBCD's concentraties in binnenhuisstof (woningen en kantoren).

Ng/g dw	Tri-hepta BDE's		BDE 209		Som HBCD's	
	bereik	mediaan	bereik	mediaan	bereik	mediaan
<b>binnenhuis<sup>a</sup></b>	<2-1200	33	<57-6300	400	<9-40700	140
<b>kantoren<sup>b</sup></b>	90-11000	280	70-11600	500	300-3600	1100

a: n=46; b: n=10. Tri-hepta BDE's is de som van BDE 47, 99, 100, 154, 153, 183, 197, 196 en 203

Kijken we enkel naar de tri-hepta PBDE-congeneren dan zien we een identiek profiel in kantoren en woningen met BDE 99 > BDE 47 > BDE 153.

Zonder rekening te houden met outliers ( $\Sigma$ HBCDs 40 700 ng/g dw), liggen voor zowel tri-hepta BDE's, BDE209 als  $\Sigma$ HBCD's waren de mediaanwaarden en het bereik van de concentraties hoger in kantoorstof dan in woningstof.

Zowel  $\Sigma$ PBDE's als  $\Sigma$ HBCD's in stof werden gekenmerkt door een erg breed bereik met enkele uitschieters. In vergelijking met buitenlandse studies bevond de  $\Sigma$ tri-hepta BDE's zich in hetzelfde bereik als stalen uit UK en Nieuw Zeeland, maar een factor 10 lager in vergelijking met stof afkomstig van US en Canada (Harrad *et al.*, 2008, Abdallah *et al.*, 2008). Concentraties van BDE 209 in Canadees stof waren vergelijkbaar met diegene gerapporteerd in deze studie, maar BDE 209-concentraties in stofstalen uit UK en US lagen een factor 10 hoger.  $\Sigma$ HBCD's in stof afkomstig van Belgische woningen lag lager in vergelijking met UK, US en Canadese woningen met mediane concentraties van 400, 700 en 640 ng/g stof. Stof uit UK kantoren bevatte 750 ng  $\Sigma$ HBCDs/g stof, wat vergelijkbaar is met de huidige studie. Dit toont aan dat ook hier hogere concentraties gevonden werden in kantoren vergeleken met woningen.

Uit de statistische testen waarbij concentraties in huisstof werden vergeleken tussen verschillende groepen van woningen kwam slechts één significant verschil naar voor: alleen bij het vergelijken van de extremen m.b.t. tapijten en gordijnen, werd er significant meer Tri-Hepta BDE's gemeten in woningen met veel gordijnen en tapijten in vergelijking met woningen met weinig of geen tapijten en gordijnen (Mann-Whitney U test,  $p= 0.018$ ). Hieronder worden de mediaanwaarden en het bereik weergegeven voor die twee groepen:

Woningen met weinig of geen tapijten/gordijnen: 26 (3,1-250) ng/g dw (n=12)

Woningen met veel tapijten/gordijnen: 71 (12-1214) ng/g dw (n=11)

#### 4.1.3 Moedermelkstalen

Tabel 5 geeft de resultaten van de gehalten aan gebromeerde vlamvertragers in moedermelk van de twee groepen vrouwen.

Met behulp van een niet-parametrische t-test (Mann-Whitney U test) werd nagegaan of er significante verschillen waren in de concentraties aan tri-Hepta, BDE209 en HBCD tussen moedermelk van jonge (18-26 jaar) en van oudere moeders (27-30 jaar). In geen van de gevallen werden significante verschillen gevonden.

**Tabel 5.** Overzicht PBDE en som HBCD's concentraties in moedermelk in pg/g lw (vetgewicht)

pg/g lpw	Tri-hepta BDE's		BDE 209		Som HBCD's	
	bereik	Mediaan	Bereik	mediaan	bereik	mediaan
<b>Jonge moeders<sup>a</sup></b>	1802- 2498	2355	2928- 34688	6175	<2100- 5651	<2100
<b>Oudere moeders<sup>a</sup></b>	1281- 6172	2975	2753- 10846	4271	<2100- 4228	<2100

a: n=11 Tri-hepta BDE's is de som van BDE 47, 99, 100, 154, 153, 183, 197, 196 en 203 lw= lipid weight

### **4.3 Resultaten voor de perfluorverbindingen**

In deze paragraaf wordt een overzicht gegeven van de resultaten van de perfluorverbindingen in zowel de voedingsstalen, stofstalen als leidingwater die in het kader van dit project verzameld werden. De resultaten worden weergegeven voor de individuele componenten. Voor de statistische vergelijking werden echter drie groepen onderscheiden; PFOS, PFOA en  $\Sigma$ PFCs. In de literatuur worden immers meestal ofwel de twee belangrijkste componenten; PFOS en PFOA, of de som van alle perfluorverbindingen gerapporteerd. De berekening van de LOQ gebeurde op dezelfde wijze als voor de gebromeerde vlamvertragers.

Gezien de uitgevoerde ringtest voor sommige matrices een behoorlijke variabiliteit in de gemeten concentraties aantoonde, en gezien slechts weinig vergelijkbare internationale literatuur beschikbaar is, dient onderstaande vergelijking geïnterpreteerd te worden als een eerste ruwe, voorlopige inschatting (zie 4.1).

#### **4.3.1 Voedselstalen**

Tabel 6. en 7. geven een samenvatting van de gemeten concentraties voor de verschillende perfluorverbindingen in voedselstalen voor stalen van respectievelijk biologische en klassieke teelt. De concentraties die worden weergegeven zijn enkel de lineaire vormen van de gemeten perfluorverbindingen.



**Tabel 6.** Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in biologische voedingsstalen. Indien < X; X= de kwantificatielimit. (met n=3)

ng/g ww	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
<b>Groenten</b>								
ui	<0,02-2,4 (0,4)	<0,1-1,3 (0,3)	<0,006-0,02 (0,02)	<0,06 (<0,06)	<0,01-0,7 (0,5)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,09 (0,06)	<0,4 (<0,4)
wortel	0,3-0,5 (0,4)	0,2-0,5 (0,3)	<0,006 (<0,006)	<0,06 (<0,06)	0,1-0,7 (0,4)	<0,1 (<0,4)	<0,06-0,07 (0,06)	<0,4 (<0,4)
prei	<0,02-1,2 (0,5)	0,4-1,5 (0,8)	<0,006-0,04 (0,03)	<0,06 (<0,06)	0,01-1,5 (1,4)	<0,1-0,1 (<0,1)	<0,06-2,2 (0,3)	<0,4 (<0,4)
aardappel	<0,02-19 (0,05)	0,2-2 (0,3)	<0,06-0,1 (<0,06)	<0,06-0,1 (<0,06)	<0,01-0,7 (0,05)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,9 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
tomaat	<0,02-0,7 (0,04)	<0,1-0,6 (0,3)	<0,06-0,06 (<0,06)	<0,06-0,1 (<0,06)	0,04-0,09 (0,09)	<0,1-0,1 (<0,1)	<0,06-0,3 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
appel	<0,02-0,7 (0,7)	0,1-0,3 (0,3)	<0,06-0,02 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	<0,01-0,5 (0,06)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
witloof	<0,02 (<0,02)	<0,1-0,6 (0,2)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,2-0,36 (0,2)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
aardbei	<0,02 (<0,02)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,02 (<0,06)	<0,06-1,4 (<0,06)	<0,02 (<0,02)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
sla	<0,2-10	<0,1-0,9 (<0,1)	<0,06-0,02 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	<0,02-0,1 (0,1)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,2 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
tarwe	<0,1 (<0,1)	<0,6 (<0,6)	<0,3 (<0,3)	<0,4 (<0,4)	<0,1 (<0,1)	<0,1 (<0,1)	<0,4 (<0,4)	0,2
<b>Eieren</b>								
	<1,4-21 (2,6)	<0,1-0,7 (0,3)	<0,006-0,09 (0,02)	<0,06-0,4 (<0,06)	0,06-0,6 (0,3)	<0,8 (<0,8)	<0,06 (<0,06)	<0,4 (<0,4)
<b>Vlees</b>								
kip	<0,1-2,1 (<0,1)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,02-0,2 (0,09)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,2 (<0,06)	<0,06-0,4 (<0,06)
rund	<0,1 (<0,1)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,12 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	<0,01-0,08 (0,02)	<0,1-0,3 (<0,1)	<0,06-0,1 (0,05)	<0,06-0,4 (0,2)
varken	<0,1-0,5 (0,5)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,07 (0,03)	<0,06 (<0,06)	0,04-0,2 (0,07)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,06 (<0,06)	<0,06-0,3 (0,2)

**Tabel 7.** Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in voedingsstalen van klassieke teelt. Indien < X; X= de kwantificatielimiet.(met n=3)

ng/g ww	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
<b>Groenten</b>								
ui	<0,02 (<0,02)	<0,6-2,3 (1,3)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,2-0,6 (0,2)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,4 (0,3)	<0,06-0,2 (0,08)
wortel	<0,02-0,2 (<0,02)	<0,6 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,6-0,8 (0,7)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,1 (0,09)	<0,06-0,3 (0,3)
prei	1,1-1,4 (1,2)	<0,6 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	3,5-9,0 (8,2)	<0,1-0,1 (<0,1)	0,1-0,2 (0,2)	0,2-0,5 (0,2)
aardappel	<0,02 (<0,02)	<0,6-0,9 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06-0,07 (<0,06)	<0,1-4,0 (0,2)	<0,1 (<0,1)	<0,06-1,7 (0,1)	<0,06-0,1 (<0,06)
tomaat	<0,02 (<0,02)	<0,6 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,3-5,0 (1,2)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,4 (0,07)	0,2-0,3 (0,3)
appel	<0,02-0,1 (0,06)	<0,6-1,6 (0,9)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,2-3,9 (0,2)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,2 (<0,06)	<0,06-0,07 (<0,06)
witloof	<0,02-0,05 (0,05)	<0,6-4,1 (3,2)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	1,0-5,4 (2,6)	<0,1-0,1 (<0,1)	0,07-4,1 (0,7)	<0,06-0,5 (0,2)
aardbei	<0,02-0,2 (<0,02)	<0,6-0,7 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06-1,9 (<0,06)	<0,1-3,1 (2,1)	<0,1-0,1 (<0,1)	<0,06-0,4 (0,08)	<0,06-0,2 (<0,06)
sla	<0,02-0,4 (<0,02)	<0,6-0,8 (<0,6)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	0,2-2,7 (1,5)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,9 (0,1)	0,09-0,4 (0,3)
<b>Eieren</b>								
Ei	<1,2-22 (<1,2)	<0,6-5,0 (<0,6)	<0,3 (<0,3)	<0,4 (<0,4)	0,2-0,8 (0,7)	<0,1-0,3 (<0,1)	<0,4 (<0,4)	<0,06-0,08 (<0,06)
<b>Vlees</b>								
kip	<0,1-0,9 (0,5)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,06-0,5 (0,3)	0,02-0,1 (0,05)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,06-1,3 (0,6)
rund	<0,1 (<0,1)	<0,1-3,3 (1,7)	<0,06 (<0,06)	<0,06-0,8 (0,4)	<0,01-0,08 (0,04)	<0,1 (<0,1)	<0,06-0,4 (0,2)	<0,06 (<0,06)
varken	<0,1 (<0,1)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)	<0,01-0,1 (0,05)	<0,1 (<0,1)	<0,06 (<0,06)	<0,06 (<0,06)

Analoog aan de analyses uitgevoerd voor de gebromeerde vlamvertragers werd met behulp van een niet-parametrische gepaarde t-test (Wilcoxon matched pairs test) een vergelijking gemaakt tussen de voedselstalen van klassieke en van biologische oorsprong. Dit werd zowel voor de mediaan waarden als voor de maximaal gemeten waarden vergeleken. Er werd zowel voor alle voedselitems tesamen getest (n=14) als apart voor groenten en fruit (inclusief bier omdat dit op basis van graan is gemaakt) (n=10) en voor dierlijke producten (n=5). Voor PFOS, noch voor PFOA werden significante verschillen gevonden tussen de twee teeltwijzen. Ook indien bier uit de statistische analyse werd weggelaten was er geen significant verschil. Voor de  $\Sigma$ PFCS werd er bij de statistische analyse van alle stalen tesamen net geen significant verschil gevonden (p=0,073). Wanneer bier uit de analyse gehaald werd, waren de gehalten wel significant hoger in voeding afkomstig van klassieke teelt (p=0,013). Werden groenten alleen beschouwd dan bleef dit verschil significant (p=0,011), voor dierlijke producten afzonderlijk getest was er geen significant verschil aantoonbaar. Om echter een betrouwbare uitspraak te doen over een mogelijk verschil tussen bio-landbouw en klassieke landbouw moeten veel meer stalen worden genomen. De bespreking hieronder betreft dan ook alleen maar de maximale gemeten waarden in voedselitems van individuele telers (biologisch of niet biologisch) zonder uitspraak te doen over significantie van verschillen.

Voor een aantal voedselitems was de variatie voor bepaalde componenten relatief hoog (bijvoorbeeld PFOS in aardappel, PFBA in prei, PFOS in eieren). Zoals eerder vermeld kan dit deels te wijten zijn aan problemen met de representativiteit van de meting, zoals uit de ringtest bleek voor bepaalde matrices (zie Fase 1). Anderzijds is het ook mogelijk dat de gehalten inderdaad sterk varieerden. Ook bij de BFRs werd immers grote variatie gemeten binnen de voedselitems.

Het concentratiebereik voor PFOS in **groenten en fruit** lag tussen < 0,02 en 19 ng/g ww. De hoogste concentraties werden teruggevonden in aardappel (19 ng/g ww), sla (10 ng/g ww) en ui (2,4 ng/g ww) afkomstig van biologische teelt en in prei (1,4 ng/g ww) afkomstig van klassieke teelt. Het concentratiebereik voor PFOA was lager en varieerde van < 0,1 tot 4,1 ng/g ww. De hoogste PFOA-concentratie werd gemeten in witloof (4,1 ng/g ww) afkomstig van de klassieke teelt, gevolgd door ui (2,3 ng/g ww) en appel (1,6 ng/g ww) van klassieke teelt en prei (1,5 ng/g ww) van biologische teelt. PFNA-concentraties lagen steeds onder de kwantificatielimit (0,06 ng/g ww) bij de klassieke teelt. Bij de biologische teelt lagen de PFNA-concentraties nooit hoger dan 0,04 ng/g ww. Ook PFBS kon in bijna geen enkel staal gedetecteerd worden op enkele uitzonderingen na. Zo werd er in aardbeien van de klassieke

teelt een concentratie van 1,9 ng/g ww gemeten. Voor zowel de klassieke als de biologische teelt lag de mediaan van PFBS steeds onder de LOQ (0,06 ng/g ww).

PFBA-concentraties bij alle groenten en fruit varieerde van < 0,1 tot 8,2 ng/g ww (in prei van klassieke teelt). Gemeten PFHxS-concentraties lagen steeds onder de LOQ (0,01 ng/g) of net er boven. Ook de PFHxA-concentraties waren zeer laag. De mediaan varieerde tussen < 0,06 en 0,07 ng/g ww. De hoogste PFHxA-concentratie werd gemeten in witloof van klassieke teelt. PFDA kon in geen enkel biologische staal worden teruggevonden. Bij de klassieke teelt kon deze component sporadisch gedetecteerd worden met een maximum van 0,5 ng/g ww bij prei en witloof. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de LOQ bij de biologische teelt (0,4 ng/g ww) hoger was dan bij de klassieke teelt (0,06 ng/g ww).

Indien de som van de mediane concentraties van de verschillende perfluorcomponenten wordt gemaakt per geanalyseerde groente/fruit staal, werd de hoogste waarde (9,8 ng/g ww) teruggevonden bij prei, gevolgd door witloof (9,6 ng/g ww), beide uit de klassieke teelt. Bij de klassieke teelt varieert deze som tussen 0,3 ng/g ww (aardappel) en 9,8 ng/g ww. Bij biologische teelt varieerde deze som tussen LOQ en 3,03 ng/g ww. De hoogste waarde werd hier ook teruggevonden bij het preistaal.

Het aantal publicaties over groenten en fruitstalen is zeer beperkt. In een studie uitgevoerd in het Verenigd Koninkrijk werden verschillende aardappelproducten zoals aardappel zelf, aardappelvlokken, frieten en chips geanalyseerd. Een maximale PFOS-concentratie van 10 ng/g ww werd gemeten (UK FSA, 2006), wat in dezelfde grootte orde is dan in de huidige studie (19 ng/g ww). In de FSA studie werd PFOA enkel voor aardappel gedetecteerd boven de LOQ, met een gemiddelde waarde van  $1 \pm 0,2$  ng/g wat eveneens vergelijkbaar is met de PFOA gehalten in aardappelen van de huidige studie (<0,6-2 ng/g). Ook 8 andere perfluorcomponenten werden in deze FSA studie teruggevonden in de aardappelgroep, maar details over welke componenten en welke concentraties ontbreken. In de huidige studie werden op één uitzondering na (PFHxS) alle gemeten componenten gedetecteerd in de aardappelen. Tittlemier *et al.* (2007) analyseerden ook verschillende samengestelde voedselstalen in Canada waaronder frieten. De totale som van perfluorsulfonamides varieerden tussen 4 en 9 ng/g. Ericson *et al.* (2008) rapporteren concentraties van gemiddeld 0,022 ng PFOS/g en < 0,027 ng PFOA/g in groenten en gemiddeld < 0,017 ng PFOS/g en < 0,036 ng PFOA/g in fruit wat lager is dan in de huidige studie (< 0,02-1,4 ng/g PFOS en < 0,6-4,1 ng/g PFOA). Gegevens over andere groenten zijn niet voorhanden in de literatuur.

Net zoals in de huidige studie waren in de FSA-studie PFOS en PFOA de dominante componenten.

Voor PFOS lag het concentratiebereik in **eieren** tussen < 1,2 en 22 ng/g ww. Voor PFOA lag het concentratiebereik tussen 0,1 en 5,0 ng/g ww.

Voor de andere componenten variëren de concentraties tussen <LOQ en en 0,8 ng/g ww. PFBA is de enige component die in beide teelten steeds boven de LOQ werd gemeten, doch in lage concentraties (bereik: 0,06-0,8 ng/g ww). In de FSA-studie werd in eieren een PFOS concentratie gemeten van  $1 \pm 0,2$  ng/g ww. Deze concentraties vallen in het PFOS-bereik van de huidige studie maar de maximaal gemeten PFOS-concentraties in de huidige studie liggen veel hoger (22 ng/g ww). In drie van de zeven geanalyseerde eistalen echter lag de PFOS-concentratie onder de LOQ.

Voor PFOS lag het concentratiebereik in **vlees** tussen < 0,1 en 2,1 ng/g ww. De maximale waarde werd gemeten in kip van biologische teelt. Voor PFOA varieerden de concentraties tussen < 0,1 tot 3,3 ng/g ww, met de hoogste waarde gemeten in rundsvlees van klassieke teelt. Gehalten aan PFDA varieerden van <0,06 tot 1,3 ng/g ww met de maximaal gemeten waarde gemeten in kippevlees van klassieke teelt. Gehalten aan de overige componenten waren steeds laag en variëren van <LOQ tot 0,6 ng/g ww. In een Canadese studie werd een PFOS concentratie van 2,7 ng/g ww gemeten in rundssteak en 2,1 ng/g ww in rundsgehakt (Tittlemier *et al.*, 2007). In rosbief lag de PFOS concentratie onder de LOD (0,6 ng/g ww). In de huidige studie liggen de PFOS-concentratie in rundsvlees voor zowel de biologische als voor de klassieke teelt onder de LOQ (0,1 ng/g ww). In de huidige studie liggen de PFNA concentraties in rundsvlees (<0,06-0,12 ng/g ww) lager dan deze in de Canadese studie waar een concentratie van 4,5 ng/g ww werd gemeten. In de zogenaamde 'Multi city study', uitgevoerd in Columbus (Amerika) werd buiten rundsgehakt ook varkens- en kippevlees (spierweefsel) geanalyseerd. PFOS werd enkel teruggevonden in één van de 18 gehaktstalen met een gemiddelde concentratie van 0,58 ng/g ww. In rosbief werd in de studie van Tittlemier *et al.* (2007) een PFOA concentratie gemeten van 2,6 ng/g.

In de biologische **koemelkstalen** lagen alle perfluorcomponenten onder de kwantificatielimiet. Bij de melkstalen van de klassieke teelt werden enkel PFOS, PFOA en PFBS gedetecteerd. De medianen liggen alle onder de LOQ, maar de maximale concentraties bedragen respectievelijk 0,6; 0,3 en 0,07 ng/ml.

In de Multi city study (3M Company, 2003) werd PFOS gemeten in 4 koemelkstalen. De concentraties varieerden tussen 0,57 en 0,85 ng/g.

**Tabel 8.** Overzicht van het bereik (minimum-maximum) van de PFC-concentraties en de mediaan in koemelkstalen. Indien < X, X= de kwantificatielimiet. (met n=3)

ng/g ml	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
biologisch	<0,6 (<0,6)	<0,3 (<0,3)	<0,09 (<0,09)	<0,02 (<0,02)	<0,02 (<0,02)	<0,1 (<0,1)	<0,2 (<0,2)	<0,3 (<0,3)
klassiek	<0,6(<0,6)- 0,6	<0,3-0,3 (<0,3)	<0,09 (<0,09)	<0,02-0,07 (<0,02)	<0,02 (<0,02)	<0,1 (<0,1)	<0,2 (<0,2)	<0,3 (<0,3)

In **vis (kabeljauw)** uit de Noordzee kon enkel PFOS en PFDA worden gedetecteerd (Tabel 9.) dit in tegenstelling met de palingen waar enkel PFHxS onder de detectielimiet lag. De PFOS-concentraties in de palingen (10-166 ng/g ww) waren beduidend hoger dan deze die werden teruggevonden in de kabeljauwstalen (<0,1-0,6 ng/g ww). De mediaan van PFDA was in beide vissoorten gelijk aan 0,4 ng/g. Een extreme hoge PFOS-concentratie (tot 166 ng/g ww) werd gemeten in palingstalen maar ook PFOA en PFBS werden in hoge concentraties teruggevonden (respectievelijk 9,1 en 12 ng/g). PFNA- en PFBA-concentraties lagen steeds lager dan 1 ng/g ww. Deze hogere concentraties in paling werden ook waargenomen voor de gebromeerde vlamvertragers. Perfluorverbindingen stapelen echter niet preferentieel op in het vetweefsel. De enige verklaring voor de hoge gehalten in paling zou dan ook kunnen zijn dat het zoetwaterstadium van paling gemeten werd en dat de gehalten van perfluors aanwezig in het mariene ecosysteem door een grotere verdunning hoger zijn dan deze in het zoetwater ecosysteem. Net zoals voor de gebromeerde vlamvertragers werd een dalende concentratie gemeten in vissen in de Schelde naarmate deze meer stroomafwaarts werden gevangen (Hoff *et al.* 2003).

**Tabel 9.** Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (ng/g) in kabeljauw en paling. (met n=3)

Vissoort ng/g ww	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFDA
kabeljauw	<0,1- 0,6 (0,4)	<0,6 (<0,6)	<0,3 (<0,3)	<0,4 (<0,4)	<0,6 (<0,6)	<0,1 (<0,1)	0,2-0,6 (0,4)
Paling	10-166 (41,9)	0,9-9,1 (1,2)	0,09-0,11 (0,11)	1,2-12 (5)	<0,2-0,3 (0,2)	<1,9 (<1,9)	0,4-1,1 (0,4)

In palingen uit de Westerschelde werd PFOS gemeten in concentraties die varieerden tussen 62 en 110 ng/g ww (Van den Heuvel-Greve *et al.*, 2006). In een andere Nederlandse studie werd een bereik van < 8 tot 143 ng/g ww gemeten in palingen afkomstig uit verschillende Nederlandse rivieren (Schrapp *et al.*, 2004). Deze bereiken zijn van dezelfde grootorde dan

deze die werden teruggevonden in de huidige studie. Tomy *et al.* (2004) vond een gemiddelde PFOS-concentratie van  $1,3 \pm 0,7$  ng/g ww in een Arcitsche kabeljauw. Deze waarde is vergelijkbaar met het gemiddelde van  $0,45 \pm 0,13$  ng/g dat werd teruggevonden in de huidige studie. Hierbij dient opgemerkt te worden dat in de studie van Tomy *et al.* (2004) een volledig vis werd geanalyseerd in tegenstelling tot de huidige studie waar spierweefsel werd genomen. De gemiddelde PFOA-concentratie in de kabeljauw uit de Noordelijke Ijszee bedroeg  $0,16 \pm 0,06$  ng/g ww. In de huidige studie lag de PFOA-concentratie onder de LOQ van 0,6 ng/g ww. Daar deze kwantificatielimiet hoger is dan 0,16 ng/g zouden de concentraties mogelijk in dezelfde range kunnen liggen. Europese gegevens van de andere componenten zijn niet beschikbaar. Ook de literatuur in niet-Europese landen over andere componenten in spier of hele visstalen is zeer beperkt. In de Amerikaanse meerforel uit de 'Big Lakes' in Noord Amerika en Canada werd PFNA gemeten in concentraties die varieerden tussen 0,6 en 4,2 ng/ml. In de huidige studie kon PFNA in elk palingstaal worden gemeten maar met een maximale concentratie van 0,11 ng/g. In een Chinese study (Ye *et al.*, 2008) werd ook PFHxS gemeten in een mengstaal van verschillende vissoorten samen met een concentratie tot 1,89 ng/g ww, wat dus lager was dan in de huidige studie ( $<0,1$  ng/g ww). Ye *et al.* (2008) detecteerden eveneens PFDA met een mediane concentratie van 0,82 ng/g. De mediaan uit deze studie is iets lager (0,4 ng/g ww) maar ook hier werd er een maximum concentratie gemeten van 1,1 ng/g ww.

Het totale bereik van de perfluorverbindingen in **bierstalen** varieerde tussen niet kwantificeerbaar en 101 pg/ml (PFHxS) (Tabel 10.). Deze hoge PFHxS concentratie werd slechts in één staal gemeten. De tweede hoogste concentratie was deze van PFOS, namelijk 39 pg/ml. PFDA en PFBA lagen in geen enkel staal boven de kwantificatielimiet. Deze waarden konden niet vergeleken worden met literatuurgegevens daar er nog geen data gepubliceerd zijn over dranken (uitgez. drinkwater).

**Tabel 10.** Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (pg/ml) in bier. (met n=6)

pg/ml	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
bereik	<1,3-39	<0,8-20	<0,2-16	<0,1-5,7	<0,6	<0,7-101	<0,2-13	<1,8
mediaan	(2,8)	(<0,8)	(0,4)	(<0,1)	(<0,6)	(<0,7)	(7)	(<1,8)

#### 4.3.2 Leidingwater

Er werden 4 leidingwaterstalen, van drie verschillende drinkwatermaatschappijen, geanalyseerd (Tabel 11.). PFOS werd gemeten in de hoogste concentratie (10,6 pg/ml) gevolgd door PFOA (4,7 pg/ml), PFHxS (3,5 pg/ml) en PFDA (1,8 pg/ml). PFNA- en PFBS-gehalten lagen onder 1pg/ml, PFBA en PFHxA werden niet teruggevonden.

**Tabel 11.** Het bereik (min-max concentratie) en de mediaan van de perfluorverbindingen (pg/ml) in leidingwater. (met n=4)

pg/ml	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
bereik	2,6-10,6	1,1-4,7	0,2-0,6	<0,1-0,9	<0,6	<0,7-3,5	<0,2	<1,8-1,8
mediaan	(3,4)	(1,1)	(0,3)	(0,1)	(<0,6)	(1,1)	(<0,2)	(<1,8)

De PFOS concentraties gemeten in de huidige studie lagen in hetzelfde bereik als deze gemeten in leidingwater uit Noord-Italië (6,2-9,7 pg/ml; Loos *et al.*, 2007); lager dan in Duitsland (<1-22 ng/ml; Skutlarek *et al.*, 2006) en hoger dan deze in Spanje (<0,24 - 0,9 ng/ml).

#### 4.3.3 Stofstalen

Tabel 12 geeft de samengevatte resultaten van de PFC-gehalten in stofstalen van woningen en kantoren. Zowel in de kantoren als in de woningen was PFOS de voornaamste perfluorverbinding met maximale concentraties van respectievelijk 526 ng/g en 211 ng/g. De mediane concentraties in de kantoren waren steeds hoger dan deze die werden teruggevonden in de woningen. Toch werden voor PFOA, PFBA, PFHxS en PFHxA hogere maximale waarden van respectievelijk 109 ng/g, 7,7 ng/g, 17 ng/g en 70 ng/g gemeten voor woningen in vergelijking met de kantoren. Het betrof echter steeds maar maximaal twee huizen waar de concentraties hoger lagen dan voor de kantoren. PFOS en PFOA vertoonden de meeste variatie zowel in de woningen als in de kantoren.



**Tabel 12.** Het bereik en de mediaan van de PFC-concentraties (ng/g ww) in binnenhuisstof verzameld in woningen en kantoren.

ng/g ww	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFBA	PFHxS	PFHxA	PFDA
woningen <sup>a</sup>	<0,1-211 (1,0)	<0,05-109 (1,0)	<0,06-8,2 (0,1)	<0,08-1,9 (<0,08)	<0,1-7,7 (0,2)	<0,1-17 (0,2)	<0,1-70 (0,6)	<0,2-3,6 (0,2)
kantoren <sup>b</sup>	<0,1-526 (2,1)	0,7-61 (2,9)	0,1-81 (0,4)	<0,08-2,7 (0,2)	0,1-4,9 (0,7)	<0,1-7,1 (0,2)	<0,1-28 (1,3)	<0,2-39 (0,9)

a: n=43; b: n=10

Uit de statistische testen waarbij concentraties in huisstof werden vergeleken tussen verschillende groepen van woningen (zie pagina blz.16 onder punt 4.) werden geen statistische verschillen gevonden, noch voor het testen van PFOS en PFOA afzonderlijk, noch voor de  $\Sigma$ PFCs. Eén woning vertoonde veel hogere concentraties voor zowel PFOS, PFOA als voor  $\Sigma$ PFCs in vergelijking met de andere woningen. Ook indien deze uitschieter uit de statistische analyse werd weggelaten, werden er geen significante verschillen gevonden tussen de groepen van huizen. Vergelijking van de meest extreme groepen (weinig apparaten/gordijnen versus veel apparaten/gordijnen) resulteerde evenmin in statistische verschillen.

De huidige resultaten werden vergeleken met 3 Europese studies uitgevoerd in Duitsland, Engeland en Zweden. In de Duitse pilootstudie werden 12 stofstalen uit woningen geanalyseerd (Fromme *et al.*, 2008). Zowel het PFOS- (3-342 ng/g) als het PFOA- (2-141 ng/g) bereik in deze studie zijn hoger dan deze uit de huidige studie. De mediane concentraties in de Duitse studie van PFOS en PFOA van respectievelijk 16 en 11 ng/g zijn eveneens hoger dan deze in de huidige studie. In een Engelse studie werden in een basisschool en in een kinderdagverblijf stofstalen verzameld. Goosey *et al.* (2008) vonden voor PFOS concentraties tussen 85 en 3700 ng/g (mediaan 1200 ng/g) en voor PFOA 220-640 ng/g (mediaan 220 ng/g). Deze concentraties zijn de hoogst gerapporteerde waarden in Europa en liggen meer dan 1000 keer hoger dan de waarden uit de huidige studie. In de studie uitgevoerd in Zweden werden 10 huizen, 10 kantoren, 38 appartementen en 5 auto's bemonsterd (Björklund *et al.*, 2009). De mediane PFOS-concentraties bedroegen respectievelijk 39, 110, 85 en 12 ng/g. Voor PFOA werden mediane concentraties van 54, 93, 70 en 33 ng/g bekomen. Voor beide componenten lagen ook de huidige mediane concentraties lager.

In de huidige studie lagen de PFOS concentraties net iets hoger dan deze van PFOA. Deze trend werd eveneens waargenomen in de Duitse (Fromme *et al.*, 2008) en Engelse studie (Goosey *et al.* 2008). Ook in Canada (Kubwabo *et al.*, 2005) en Noord Amerika (Strynar and

Lindstorm, 2008) werd dit geobserveerd. Alleen in de Zweedse studie (Björklund *et al.*, 2009) en in twee Japanse studies (Moriwake *et al.*, 2003; Nakata *et al.*, 2007) lag de mediane PFOA concentratie hoger dan deze van PFOS.

Voor de andere componenten is er bijna geen literatuur beschikbaar. Enkel de PFHxS waarden kunnen vergeleken worden met een Noord-Amerikaanse (Strynar and Lindstorm, 2008) en een Canadese studie (Kubwabo *et al.*, 2005). In beide studies liggen de mediane concentraties van respectievelijk 45,5 en 23,1 ng/g veel hoger dan deze uit de huidige studie (kantoren 1,3 ng/g; huizen 0,6 ng/g).

#### 4.3.4 Serumstalen

Wat de serumstalen betreft werden voor 10 gebieden gepoolde stalen geanalyseerd van volwassenen (serum), adolescenten (serum) en pasgeborenen (plasma) (zie 3.1.3). Voor de pasgeborenen waren er enkel stalen beschikbaar van 9 gebieden (niet van het landelijk gebied). Van elke pool werden drie stalen geëxtraheerd en deze werden in tweevoud gemeten.

Tabel 13. geeft de resultaten voor de PFCs in de drie verschillende groepen serumstalen voor de verschillende gebieden.

Uit de resultaten bleek dat PFBS en PFBA steeds onder de detectielimiet van respectievelijk 0,03 ng/ml en 0,3 ng/ml te liggen met uitzondering van het plasmastaal van de pasgeborenen uit de Antwerpse haven waren een PFBS-concentratie van 0,32 ng/ml werd gedecteerd.

Met behulp van de niet-parametrische Kruskal Wallis test werd nagegaan of er voor de verschillende componenten (afzonderlijk en voor de som) significante verschillen tussen de drie groepen werden geobserveerd. Voor PFOS, PFNA, PFHxS, PFDA en  $\Sigma$ PFCs werden er significante verschillen geobserveerd. Voor al deze componenten waren de gehalten het hoogst in bloed van volwassenen en significant hoger dan in de pasgeborenen en bovendien voor PFNA en PFDA ook hoger dan in de adolescenten.

PFOS werd in elk staal gedecteerd met concentraties die variëren tussen 0,80 ng/ml (pasgeborenen, gebied verbrandingsoven) en 170 ng/ml (volwassenen, havengebieden) met een gemiddelde van 46,4 ng/ml van alle leeftijdsklassen. De hoogste concentraties werden teruggevonden bij de adolescenten van de Gentse Kanaalzone en bij de volwassenen van de Antwerpse agglomeratie en havengebieden. De gemiddelde PFOS-concentratie per leeftijdscategorie was het hoogst bij volwassenen ( $72,7 \pm 43,0$  ng/ml), gevolgd door de adolescenten ( $56,7 \pm 23,2$ ) en het laagst bij de pasgeborenen ( $6,01 \pm 4,91$  ng/ml). De

verschillen waren alleen significant tussen volwassenen en pasgeborenen ( $p < 0,001$ ) en tussen adolescenten en pasgeborenen ( $p < 0,001$ ).

PFOA werd bijna in alle stalen gedetecteerd met uitzondering van drie gebieden (havengebieden fruitstreek en Olen) bij de pasgeborenen. De concentraties varieerden tussen niet detecteerbaar ( $< 0,9$  ng/ml) en  $9,51$  ng/ml (pasgeborenen, Gentste Agglomeratie). Het is belangrijk op te merken dat enkel voor PFOA de maximale waarde werd teruggevonden bij pasgeborenen. Voor de gemiddelde PFOA-concentratie per leeftijdscategorie voor alle gebieden samen, werd een omgekeerde trend geobserveerd dan voor PFOS namelijk: pasgeborenen ( $3,24 \pm 3,20$  ng/ml)  $>$  adolescenten ( $2,84 \pm 0,59$  ng/ml)  $>$  volwassenen ( $2,21 \pm 0,72$  ng/ml). Deze verschillen waren echter niet significant, waardoor er geen uitspraken over gedaan kunnen worden.

De gemiddelde PFNA-, PFHxS-, PFHxA- en PFDA-concentraties van respectievelijk  $1,15$  ng/ml,  $1,77$  ng/ml,  $0,1$  ng/ml en  $1,29$  ng/ml waren lager dan deze van PFOS ( $46,4$  ng/ml) en PFOA ( $2,69$  ng/ml). Van PFNA, PFHxS, PFHxA en PFDA werd de hoogste waarde teruggevonden bij PFHxS in het serum van volwassen uit de havengebieden en bedroeg  $8,08$  ng/ml. De gemiddelde concentraties per leeftijdscategorie waren steeds het hoogst bij de volwassenen (PFNA:  $2,11$  ng/ml; PFHxS;  $3,00$  ng/ml; PFDA:  $2,08$  ng/ml). Bij PFNA en PFDA waren alle groepen significant verschillend van elkaar ( $p < 0,05$ ). Bij PFHxS verschilden alleen de volwassenen significant van de pasgeborenen. Bij PFHxA werden de hoogste gehalten gemeten in het serum van adolescenten ( $0,12$  ng/ml). Het verschil met de andere leeftijdscategorieën was echter klein en niet significant (volw:  $0,08$  ng/ml en pasgeborenen  $0,05$  ng/ml).

Algemeen kan gesteld worden dat de hoogste PFC-concentraties werden gemeten in het serum van volwassenen en dat de hoogste concentraties meestal werden teruggevonden in de Antwerpse agglomeratie en/of in de havengebieden (zowel het samengesteld staal als in beide deelgebieden met name Genste Kanaalzone en Antwerpse Haven).

**Tabel 13.** Resultaten serumstalen uit 10 verschillende gebieden (1: Antwerpse agglomeratie, 2: Havens (Antwerpse haven en Gentse kanaalzone), 3: Fruitstreek, 4: Olen, 5: Gentse agglomeratie, 6: Regio verbrandingsoven, 7: Landelijk, 8: Albertkanaalzone, 9: Antwerpse Haven, 10: Gentse Kanaalzone) voor 3 verschillende leeftijdscategorieën: adolescenten, volwassen en pasgeborenen. De gemiddelde concentraties worden weergegeven met de standaarddeviatie (op 3 extracten) en zijn uitgedrukt in ng/ml. \*: geen standaarddeviatie omdat er slechts één extract werd gemeten ipv 3.

	gebied	PFOS		PFOA		PFNA		PFHxS		PFHxA		PFDA	
		Gem	STDEV	Gem	STDEV	Gem	STDEV	Gem	STDEV	Gem	STDEV	Gem	STDEV
Pasgeborenen	1	11,03	1,88	0,63	0,70	0,17	0,24	<0,02		0,14	0,07	0,71	0,37
	2	15,85	6,22	<0,9		0,16	0,06	<0,02		0,02	0,04	0,99	0,41
	3	5,05	1,46	<0,9		<0,05		<0,02		0,03	0,06	0,32	0,22
	4	7,96	0,91	<0,9		0,02	0,07	<0,02		0,01	0,01	0,52	0,18
	5	5,11	0,51	9,51	0,72	<0,05		<0,02		<0,01		<0,01	
	6*	0,80		2,89		0,24		0,55		<0,01		<0,01	
	8	2,03	0,63	2,06	0,10	0,24	0,14	0,04	0,08	<0,01		0,20	0,10
	9	4,85	0,18	2,98	0,40	0,29	0,06	0,99	0,86	<0,01		0,36	0,06
	10	1,41	0,32	1,39	0,04	0,10	0,16	<0,02		<0,01		0,20	0,06
	Adolescenten	1	43,83	6,15	2,66	0,59	0,69	0,08	0,50	0,50	0,15	0,13	1,25
2		53,75	12,93	2,92	1,17	1,06	0,47	0,19	0,16	0,06	0,06	1,07	0,69
3		34,94	1,40	2,24	0,26	0,43	0,12	0,11	0,19	0,10	0,07	0,81	0,16
4		52,85	5,45	3,53	0,42	0,80	0,36	0,41	0,27	0,05	0,05	1,19	0,36
5		45,12	3,76	3,34	0,47	0,69	0,11	0,66	0,57	0,00	0,02	0,97	0,72
6		41,73	3,40	2,85	0,84	0,59	0,11	0,03	0,05	0,28	0,32	0,55	0,25
7		64,36	11,64	3,79	2,00	1,10	0,68	0,58	0,65	0,32	0,12	1,73	0,32
8		42,56	7,19	1,84	0,36	0,60	0,18	1,22	1,14	0,16	0,10	0,48	0,49
9		74,71	4,24	2,45	0,14	1,24	0,46	1,67	1,39	0,06	0,01	1,12	0,10
10		113,63	34,05	2,83	0,61	1,49	0,42	3,76	1,87	0,03	0,02	1,45	0,63
Volwassenen	1	98,76	19,30	3,18	0,80	2,41	0,51	5,11	3,78	0,03	0,04	1,86	0,50
	2	170,53	1,40	3,37	0,52	3,17	1,22	8,08	4,23	0,12	0,19	2,86	0,51
	3	79,42	13,11	2,20	0,72	1,89	0,25	0,71	0,68	0,17	0,09	2,35	0,29
	4*	9,31		2,86		1,26		6,90	0,20	0,01		1,95	
	5	52,87	2,21	1,73	0,17	1,13	0,24	1,16	0,33	0,02	0,05	1,05	0,97
	6	62,54	4,41	1,44	0,60	2,09	0,17	0,98	0,10	0,01	0,05	1,72	1,00
	7	62,56	6,06	1,42	0,10	2,17	0,79	1,54	0,22	0,13	0,19	2,62	0,83
	8	35,73	2,94	1,52	0,18	1,42	0,20	0,52	0,64	0,12	0,03	1,34	0,62
	9	89,04	2,71	1,98	0,70	3,01	0,81	3,38	1,57	0,14	0,05	2,18	0,94
	10	62,46	9,09	2,41	0,14	2,55	0,87	1,64	0,22	0,01	0,03	2,92	1,03

Gebied\*: geen standaarddeviatie omdat er slechts één extract werd gemeten ipv 3.

In de meeste studies waarin het verband tussen de leeftijd en de PFAs concentraties werd onderzocht, werd geen significant effect geobserveerd. Zelf in de uitgebreide studie van NHANES waarin 54 gepoolde serumstalen van 2001/2002 en 1562 serum stalen van 1999-2000 werden geanalyseerd was er geen indicatie voor een leeftijdseffect (Calafat *et al.*, 2006 en 2007). Twee Duitse studies echter vonden wel een significante leeftijdsgerelateerde toename van perfluorcomponenten (Fromme *et al.*, 2007, Hölzer *et al.*, 2008). In de studie van Fromme *et al.* (2007) werd dit enkel waargenomen bij vrouwen. In de studie van Hölzer

*et al.* (2008) was de leeftijd van mannen positief gecorreleerd met de PFOS-, PFOA- en PFHxS-gehalten in het plasma. Voor vrouwen werd deze positieve correlatie enkel teruggevonden voor PFOA. In een Amerikaanse studie werd eveneens een toename van PFCs waargenomen met de leeftijd waar de mediane concentraties van PFOS en PFHxS significant lager waren bij personen die jonger waren dan 40 jaar (Olsen *et al.*, 2005). Ook in Australië werd een significante toename van PFOS met leeftijd waargenomen bij de vrouwelijke deelnemers (Kärman *et al.*, 2006). In die studie waren de PFOA-, PFHxS- en PFOSA-gehalten hoger bij de adolescenten (<16 jaar) en bij de ouderen (> 60 jaar), dan de concentraties bij middelbare leeftijd (16-60 jaar).

Wanneer we onze resultaten vergelijken met andere studies uitgevoerd in Europa kan gesteld worden dat de huidige PFOS-concentraties gemiddeld hoger lagen dan de concentraties die werden teruggevonden in de literatuur voor de Belgische bevolking. Zo vonden Kannan *et al.* (2004) een gemiddelde van 11,1 ng/ml en 16,8 ng/ml PFOS in respectievelijk vrouwelijke en mannelijke serumstalen van Belgen. In de huidige studie werd voor de volwassenen een gemiddelde van  $72,7 \pm 43,0$  ng/ml gemeten. Ook de studie van de 3M Company (2003) rapporteerde een beduidend lager gemiddelde van 17 ng/ml in serum van de Belgische bevolking. Ook in andere Europese landen ligt het gemiddelde lager dan de resultaten in de huidige studie. Zowel in Denemarken (serum van moeder met een leeftijd <25-34jaar; Fei *et al.*, 2007), Duitsland, Nederland (3M Company, 2003), Zweden, Engeland (Kärman *et al.*, 2007), Spanje (Ericson *et al.*, 2007), Italië en Polen (Kannan *et al.*, 2004) werden gemiddelde PFOS concentraties gerapporteerd van respectievelijk 35,6 ng/ml; 37ng/ml; 53 ng/ml; 33,4 ng/ml; 14,2 ng/ml; 7,64 ng/ml; 4,4 ng/ml en 44,4 ng/ml. In de andere Europese landen werden er soms ook maximale PFOS concentraties terug gevonden boven de 100 ng/ml. Zo werd er in serum van Duitse mannen een maximale concentratie van 131 ng/ml (mediaan 22,3 ng/ml, Midash *et al.*, 2006) gemeten. Ook bij Zweedse vrouwen werd er een maximale concentratie van 130 ng/ml (gemiddelde 36 ng/ml) teruggevonden (Holmström *et al.*, 2005). Ook in de algemene Zweedse populatie werd een maximale concentratie van 90,9 ng/ml gedetecteerd (Kärman *et al.*, 2004).

De gemiddelde PFOA-concentratie in het serum van volwassenen ( $2,33 \pm 0,7$  ng/ml) die in de huidige studie werd teruggevonden, lag lager dan de eerder gerapporteerde gemiddelde waarden van de Belgische bevolking (4,6 ng/ml in Kannan *et al.*, 2004). De laagste concentratie (4,9 ng/ml) die werd gemeten in serum van de Belgische bevolking in de studie uitgevoerd door 3M (2003) lag nog steeds hoger dan de maximaal gemeten waarde in de huidige studie. Indien de huidige gemiddelde PFOA-concentratie wordt vergeleken met

andere Europese gegevens, is deze vergelijkbaar met Spanje (1,8 ng/ml; Ericson *et al.*, 2007) en lag deze lager dan de gemiddelde concentraties die werden gemeten in 2 Duitse studies (5,3 ng/ml Fromme *et al.*, 2007 en 7,1 ng/ml Midash *et al.*, 2006), Zweden ( 3,8 ng/ml Kärroman *et al.*, 2006; 4,0 ng/ml Holmström *et al.*, 2005) en Polen (21,2 ng/ml, Kannan *et al.*, 2004). Enkel in Italië werd een lager gemiddelde gemeten (< 3 ng/ml, Kannan *et al.*, 2004).

Voor de andere componenten is de beschikbare literatuur beperkt. Het bereik van PFHxS (0,04–8,08 ng/ml) in de huidige studie lag hoger dan de eerder gepubliceerde data uit België (<1-1,4 ng/ml; Kannan *et al.*, 2004), Italië (1,3-2,1 ng/ml; Kannan *et al.*, 2004) en Duitsland (<0,1-5,4 ng/ml; Hölzer *et al.*, 2008). In onze studie lag het bereik van PFHxS wel lager dan deze teruggevonden in 2 Zweedse studies (0,4-28,4 ng/ml; Kärroman *et al.*, 2006 en 1,8-11,8 Kärroman *et al.*, 2007) en dan in de studie uitgevoerd in Italië (0,65-20,0 ng/ml; Ericson *et al.*, 2007). De huidige mediaan van PFHxS (0,98 ng/ml) is vergelijkbaar met de medianen die werden teruggevonden in de studie van Kannan *et al.* (2004) van respectievelijk <1 en 1,2 ng/ml voor mannen (n=16) en vrouwen (n=4) uit België. De medianen die werden teruggevonden in in Zweden ( 1,5 ng/ml; Kärroman *et al.*, 2006 4,0 ng/ml en Kärroman *et al.*, 2007), Spanje ( 2,92 ng/ml; Ericson *et al.*, 2007) zijn hoger dan de mediaan uit de huidige studie (0.98 ng/ml).

De PFHxA-concentraties in onze studie varieerden tussen 0,01 en 0,14 ng/ml. In de Zweedse studie van Kärroman *et al.* (2006) lag de concentraties hoger (<0,1 en 1,6 ng/ml). Verder zijn er geen Europese studies beschikbaar waarin deze component werd gemeten. Ook voor PFNA en PFDA zijn er slechts twee Europese studies om de data te vergelijken, beide uitgevoerd in Zweden. Voor respectievelijk PFNA en PFDA bedroeg het bereik in de huidige studie respectievelijk 1,13-3,17 ng/ml en 1,05-3,98 ng/ml. Voor PFNA en PFDA werden in Zweden respectievelijk bereiken teruggevonden van <0,1-2,5 ng/ml en <0,1-1,8 ng/ml (Kärroman *et al.*, 2007).

#### 4.3.5 Moedermelkstalen

Tabel 14. geeft de meetresultaten van de perfluorverbindingen in de moedermelkstalen. Van de gemeten perfluorverbindingen lag enkel PFBA overall onder de kwantificatielimiet (0,21 ng/ml). De hoogste concentratie van alle gemeten perfluorverbindingen bedroeg 28 ng/ml voor PFOS. Deze PFOS-concentratie werd gemeten in de moedermelk van de moeders uit de hogere leeftijdscategorie (27-30 jaar) in Waals-Brabant. Ook PFHxS werd in relatief hogere concentraties teruggevonden in vergelijking met de andere componenten. Zo werd in het moedermelkstaal van Vlaams-Brabant van de moeder uit de lagere leeftijdscategorie (18-26

jaar) een PFHxS-concentratie gemeten van 5,28 ng/ml. De PFOA-, PFNA-, PFHxA- en PFDA-concentraties lagen steeds onder 1 ng/ml met uitzondering van het moedermelkstaal van Brussel (leeftijd moeders: 18-26 jaar) waar 3,14 ng/ml werd gemeten voor PFOA.

Er zijn verschillende studies die een significante correlatie tussen PFOA en PFOS hebben teruggevonden in serum of plasma (Midash et al., 2006, Guruge et al., 2005, Olsen et al., 2003 en 2004). Ook in binnenhuisstof werd in de meeste studies een significante correlatie teruggevonden (Moriwake et al., 2003; Kubwabo et al., 2005; Goosey et al., 2008 en Björklän et al., 2009). Deze observaties wijzen op een gemeenschappelijke blootstellingsroutes.

**Tabel 14.** Resultaten moedermelkstalen in ng/ml van 10 Belgische provincies en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest en 2 leeftijdsgroepen van de moeders; groep 1: 18-26 jaar; groep 2: 27-30 jaar.

Gebied	leeftijd	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFHxS	PFHxA	PFDA
Antwerpen	1	<0,41	0,42	0,10	<0,02	<1,47	0,02	0,08
Antwerpen	2	<0,41	<0,26	0,16	<0,02	<1,47	<0,01	0,14
Oost VL	1	<0,41	<0,26	0,09	<0,02	<1,47	0,02	0,10
Oost VL	2	<0,41	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	0,01	0,27
West VI	1	<0,41	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	0,13
West VI	2	<0,41	<0,26	0,09	<0,02	<1,47	0,01	<0,02
Limburg	1	7,41	0,82	0,08	0,20	4,31	0,30	0,34
Limburg	2	7,89	0,44	<0,08	0,21	2,95	0,31	<0,02
VI Brabant	1	10,87	0,76	0,17	0,09	5,28	0,31	<0,02
VI Brabant	2	9,22	0,48	<0,08	0,23	3,74	0,31	0,23
W Brabant	1	8,50	0,40	0,17	0,10	4,00	0,37	0,13
W Brabant	2	28,21	0,46	0,13	<0,02	<1,47	0,06	<0,02
Luxemburg	1	<0,41	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	0,43
Luxemburg	2	6,88	0,27	0,16	<0,02	<1,47	0,01	0,16
Namen	1	8,81	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	<0,02
Namen	2	<0,41	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	<0,02
Luik	1	3,08	0,29	0,15	<0,02	<1,47	<0,01	<0,02
Luik	2	<0,41	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	<0,02
Henegouwen	1	3,24	0,32	0,19	<0,02	<1,47	0,04	<0,02
Henegouwen	2	2,79	<0,26	<0,08	<0,02	<1,47	<0,01	<0,02
Brussel	1	3,14	3,52	0,10	<0,02	<1,47	0,03	<0,02
Brussel	2	<0,41	0,41	0,11	<0,02	<1,47	0,01	<0,02

In tabel 15. wordt een overzicht gegeven van het bereik en de mediaan per component voor de twee leeftijdsgroepen. Zowel de mediaan als de maximale waarden van PFOS waren hoger dan de andere componenten. De tweede hoogste component was PFHxS, gevolgd door PFOA (0,3 ng/ml). Voor de andere componenten (PFNA, PFBS, PFHxA en PFDA) lag de mediaan onder 1 ng/ml.

**Tabel 15.** Bereik en mediaan van de verschillende PFCs in moedermelk van de twee leeftijdsgroepen

ng/ml	PFOS	PFOA	PFNA	PFBS	PFHxS	PFHxA	PFDA
Jonge	< 0,4-10,9 (3,14)	<0,3-3,5 (0,32)	<0,08-0,2 (0,10)	<0,01-0,2 (<0,01)	<1,4-5,3 (<1,4)	<0,01-0,4 (0,04)	<0,02-0,4 (<0,02)
Oudere	< 0,4-28,2 (0,23)	<0,3-0,48 (<0,16)	<0,08-0,2 (<0,05)	<0,01-0,2 (<0,01)	<1,4-3,4 (<1,4)	<0,01-0,3 (0,01)	<0,02-0,3 (<0,02)
totaal	<0,4-28 (2,9)	<0,3-3,5 (0,3)	<0,08-0,2 (0,09)	<0,01-0,2 (<1,4)	<1,4-5,3 (<1,4)	<0,01-0,4 (0,04)	<0,02

Met behulp van een niet-parametrische t-test (Mann-Whitney U test) werd nagegaan of er significante verschillen in concentraties van de componenten tussen de jonge en oudere moeders werden gemeten. Voor geen van de componenten konden significante verschillen worden aangetoond.

De literatuur over PFCs-concentraties in moedermelk in andere Europese landen is beperkt.

De huidige PFOS en PFOA mediaan van respectievelijk 2,9 ng/ml en 0,28 ng/ml liggen hoger dan deze gemeten in Zweden (0,17 ng/ml en <0.21 ng/ml; Kärman *et al.*, 2007), Duitsland (0,12 ng/ml en <0.20 ng/ml; Völkel *et al.*, 2008) en Hongarije (0,33 ng/ml en <0.20 ng/ml; Völkel *et al.*, 2008).

Ook het bereik van PFOS dat in de huidige studie werd gemeten, ligt hoger dan deze die werd gevonden in Zweden (0,06-0,41 ng/ml Kärman *et al.*, 2007), Duitsland (0,1-0,6 ng/ml; Völkel *et al.*, 2008) en Hongarije (0,03-0,3 ng/ml; Völkel *et al.*, 2008). Ook voor PFOA liggen de huidige concentraties (<0,3-3,5 ng/ml) hoger dan in Zweden, Duitsland en Hongarije maar het verschil is minder groot. Zo variëerden de PFOA-concentraties in Zweden tussen <0,21-0,49 ng/ml en in de studie van Völkel *et al.* (2008) tussen <0,2-0,5 ng/ml. De huidige PFOA-concentraties waren wel lager in vergelijking met een andere Duitse studie (Suchenwirth *et al.*, 2006) waar PFOA-concentraties werden gemeten van 4,1 tot 12,7 ng/ml. In deze studie waren ook de PFHxS-concentraties veel hoger (7,5-12,5 ng/ml) dan in de huidige studie (<0,01-0,4 ng/ml). Voor de andere componenten (PFNA, PFBS, PFHxA en PFDA) kon enkel vergeleken worden met de resultaten van een Amerikaanse studie (Tao *et al.*, 2008), waar het concentratiebereik van PFBS (0,001-0,2 ng/ml) zeer gelijkaardig was aan deze in de huidige studie. Het bereik voor PFHxS (0,00-0,06 ng/ml) en PFNA (0,005-0,02 ng/ml) in de studie van Tao *et al.* (2008) was lager dan deze uit de huidige studie. Voor PFBA konden geen data uit andere studies worden gevonden.

#### **4.4 Correlaties tussen PFCs en BFRs**

Er werd met behulp van een spearman rank correlatie nagegaan of er significante correlaties bestonden tussen de PFCs en de BFRs. Dit gebeurde door zowel alle afzonderlijke



componenten als de somparameters met elkaar te correleren. Zowel bij de BFRs als de PFCs onderling werden significante correlaties gevonden. Onderlinge correlaties kunnen wijzen op een gemeenschappelijk contaminatiebron. Wanneer de stofstalen van huizen en kantoren werden getest, bleken bovendien de meeste BFRs positief gecorreleerd te zijn met de meeste PFCs. Alle BFRs met uitzondering van BDE28 en BDE196 waren significant positief gecorreleerd met PFOS en PFOA ( $R=0,28 - 0,9$ ). De tri-hepta congenere waren significant gecorreleerd met alle PFCs ( $R=0,29 - 0,59$ ). HBCD was uitsluitend gecorreleerd met PFOS ( $R=0,36$ ), PFOA ( $R=0,41$ ), PFBS ( $R=0,59$ ) en  $\sum$ PFCs ( $R=0,39$ ). Een R-waarde van 0,56 werd gevonden wanneer de  $\sum$ BDE's (tri-hepta) gecorreleerd werd aan de  $\sum$ PFCs. Dit zou kunnen wijzen op een gemeenschappelijke contaminatiebron.

Voor de groenten werden geen eenduidige correlaties gevonden. In een aantal gevallen werden significant positieve correlaties gevonden maar in bijna evenveel gevallen negatieve relaties. De somparameters waren niet significant gecorreleerd tussen PFCs en BFRs.

Opvallend voor de dierlijke producten was dat er uitsluitend negatieve correlaties werden waargenomen tussen de gehalten aan PFCs en BFRs. De meeste BDE's waren significant negatief gecorreleerd met PFOS en PFOA ( $R=-0,37 - -0,66$ ). Ook  $\sum$ BDE's was negatief gecorreleerd met  $\sum$ PFCs ( $R=-0,45$ ). Hiervoor kon geen verklaring worden gevonden. Mogelijke verklaringen zouden een verschil in biobeschikbaarheid kunnen zijn of een competitie voor opname tussen BFRs en PFCs. Hierover werden echter geen gegevens gevonden in de literatuur.

## ***5. Beschikbare toxiciteitsinformatie voor perfluorverbindingen en gebromeerde vlamvertragers***

### **5.1. Inleiding**

Er werd getracht een breed en volledig overzicht te geven van de beschikbare literatuur omtrent de toxiciteit voor verschillende perfluorverbindingen en gebromeerde vlamvertragers die het onderwerp zijn van deze studie. De inventarisatie van de beschikbare literatuur verzameld tot mei 2009 beperkt zich tot toxiciteitsdata voor proefdieren en voor de mens, waarbij het begrip proefdieren beperkt is tot de klassieke laboratoriumorganismen, voornamelijk zoogdieren (muizen, ratten, ...). Ook de beschikbare informatie uit *in vitro* experimenten werd kort voorgesteld, al dient er op gewezen te worden dat deze testen veeleer informatie verschaffen over het werkingsmechanisme van een stof en niet noodzakelijk onmiddellijk relevant zijn voor risico-analyse. Voor het volledige overzicht van de beschikbare literatuur wordt verwezen naar deelrapport II.

### **5.2. Perfluorverbindingen**

#### *Overzicht van de behandelde stoffen*

Voor perfluorverbindingen werden voornamelijk de beschikbare toxiciteitsinformatie voor PFOS en PFOA in detail besproken. Daarnaast werd ook kort de beschikbare informatie voor andere, minder gekende perfluorverbindingen besproken: PFBS, N-EtFOSE (N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)-perfluorooctanesulfonamide), PFDA, PFNA, PFHxS, FTOH (fluortelomeren) en PFTE (polytetrafluorethyleen).

#### *Beschrijving van het toxische werkingsmechanisme*

Onderzoek naar de toxicologische werkingsmechanismen van PFOA en PFOS geeft aan dat beide stoffen sommige biologische aangrijpingspunten hebben die dezelfde zijn. PFOS en PFOA accumuleren in de lever en het zijn allebei peroxisoomproliferators. Ten gevolge van proliferatie van peroxisomen is er een verhoogde productie van waterstofperoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) wat kan leiden tot oxidatieve stress door het ontstaan van vrije hydroxylradicalen. Deze kunnen op hun beurt leiden tot verhoogde DNA-schade of inhibitie van intercellulaire communicatie. Daarnaast is ook aangetoond dat PFOS en PFOA verscheidene metaboliserende enzymen induceren, apoptose kunnen induceren, en interfereren met de hormoonspiegel.

#### *Toxische effecten bij proefdieren*

PFOS en PFOA zijn slechts acuut toxisch bij relatief hoge concentraties (grootteorde van milligrammen). Bij chronische blootstelling aan lage concentraties blijkt dat vooral de lever het doelorgaan is voor de effecten van PFOS en PFOA. Vergroting van de lever en verstoring van de leverfuncties zijn eindpunten die consistent bij verschillende proefdieren worden waargenomen.

Daarnaast blijkt dat PFOS en PFOA vooral de reproductie kunnen beïnvloeden, waarbij vooral de *in utero* blootstelling belangrijk is voor mortaliteit, groeiachterstand of tragere ontwikkeling van het skelet bij pups. De oorzaken van de effecten op de nakomelingen zijn niet gekend, mogelijk zijn veranderingen in de schildklierhormoonhuishouding hierbij betrokken. Recent onderzoek bij muizen toont tevens aan dat er mogelijk immunotoxische effecten te verwachten zijn van PFOS en PFOA bij milieurelevante concentraties.

PFOS en PFOA bleken over het algemeen geen mutageniteit en slechts een beperkte carcinogeniteit te vertonen.

#### *Toxische effecten in humane studies*

Potentiële gezondheidseffecten van PFOA en PFOS door beroepsblootstelling van werknemers worden al sinds 1976 opgevolgd door 3M, de belangrijkste producent van deze stoffen. Tot op heden werden voor PFOA geen significante verbanden aangetoond tussen beroepsblootstelling en algemene of oorzaaksspecifieke mortaliteitsstatistieken. Voor PFOS daarentegen zijn er wel aanwijzingen dat beroepsblootstelling resulteert in afwijkende leverfunctieparameters en dat er een significant hoger voorkomen is van kanker. Vooral kankers van de reproductieorganen kwamen meer voor bij mannelijke arbeiders met de hoogste en de meest langdurige beroepsblootstelling.

PFOS en PFOA kunnen via de placenta overgedragen worden van moeder naar foetus. Bij gepaarde analyses bleek dat de concentratie PFOS in navelstrengbloed 1,25 tot 2,5 keer lager was dan in het plasma van de moeder. Voor PFOA is er geen verschil tussen navelstrengbloed en plasma van de moeder, en dus kan PFOA ongehinderd via de placenta worden overgedragen van moeder naar foetus. Recent epidemiologisch onderzoek toont daarenboven aan dat er een significant negatief verband bestaat tussen de aanwezigheid van PFOS of PFOA in navelstrengbloed en geboortegewicht.

Voor perfluorchemicaliën andere dan PFOS en PFOA bestaat veel minder toxicologisch informatie. Aan de hand van vergelijkende studies, zijn er echter wel duidelijke aanwijzingen dat deze minder bestudeerde PFCs eenzelfde toxicologisch profiel hebben, maar dat er geen éénduidige werkingsmechanismen bestaan om overkoepelend alle effecten te beschrijven.

### *Blootstellingsmarge*

Gebaseerd op de beschikbare data van dierstudies en humane epidemiologische data, wordt het blootstellingbereik voor kinderen en potentiële moeders geschat op 66-9125 voor PFOA en 310-1550 voor PFOS. De blootstellingsmarge is het relatieve verschil tussen de gemeten PFOA/PFOS concentraties in humaan serum en in serum van proefdieren met waargenomen ontwikkelingseffecten. Aan de hand van bovenstaande en vergelijkbare toxiciteitsdata heeft het CONTAM panel van het European Food Safety Agency (EFSA) voor humane blootstelling aan PFOS en PFOA een maximaal toelaatbare dagelijkse dosis (Tolerable Daily Intake, TDI) van respectievelijk 150 ng/kg per dag en 1,5 µg/kg per dag berekend. Aan de hand van deze TDI's werd zowel voor PFOS als PFOA besloten dat het weinig waarschijnlijk is dat er gezondheidseffecten voorkomen bij het publiek, maar dat opvolging in de tijd zeker aan te raden is.

### **5.3 Gebromeerde vlamvertragers**

#### *Overzicht van de behandelde stoffen*

Voor de gebromeerde vlamvertragers werden 3 stoffen in detail besproken: Deca-BDE, TBBP-A en HBCD. Daarnaast werden ook Penta-BDE en Octa-BDE kort besproken.

#### *Beschrijving van het toxische werkingsmechanisme*

Over het algemeen is er een gebrek aan kwalitatieve toxiciteitsdata voor gebromeerde vlamvertragers.

#### *Toxische effecten bij proefdieren*

De beschikbare data lijken te indiceren dat de acute toxiciteit van BFRs relatief laag is, dat er geen mutagene potentie aangetoond kan worden en dat er een groot gebrek is aan epidemiologische informatie. De enige consistent waarneembare effecten bij proefdieren zijn deze die betrekking hebben op de werking van de schildklier, en de verschillende thyroidhormonen die hierbij een rol spelen. Voor zowel Deca-BDE als HBCD werden deze effecten zowel *in vivo* als *in vitro* aangetoond, terwijl dit voor TBBP-A enkel *in vitro* kon worden aangetoond.

#### *Toxische effecten in humane studies*

Uit het erg beperkte aantal arbeidsstudies en epidemiologische studies kunnen geen onmiddellijke effecten op de volksgezondheid aangetoond worden, al vraagt de observatie dat

sommige gebromeerde vlamvertragers in navelstrengbloed worden aangetroffen, en dus kunnen overgaan van moeder op foetus, voor verder onderzoek.

#### *Blootstellingsmarge*

In een rapport van de Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) uit 2005 werd besloten dat er voor Deca-BDE te weinig relevante toxiciteitsdata beschikbaar waren om een betrouwbare TDI te bepalen. Ook voor HBCD werd eerder bepaald dat er te weinig data beschikbaar was om een betrouwbare RfC te bepalen. Wel stelden NRC (2000) een RfD van 0,2 mg/kg per dag vast, al gaven ze aan dat de onzekerheid hieromtrent groot was. Voor TBBP-A werden geen RfD- of RfC-waarden teruggevonden.

### **5.4 Aanvullende toxiciteitstesten voor mechanistische karakterisatie**

#### 5.4.1 Inleiding

Als aanvulling op de uitgebreide literatuurstudie werden twee *in vitro* toxiciteitstesten uitgevoerd, namelijk een Cat-tox test en de MCF-7 celproliferatietest. Op deze manier werd bijkomende informatie verzameld over zowel het stress-inducerend alsook het endocrien verstoring vermogen van gebromeerde vlamvertragers en perfluorverbindingen. Naast het testen van de enkelvoudige stoffen, werd ook een eerste preliminaire studie gedaan naar de mengseleffecten van de gebromeerde vlamvertragers en de perfluorverbindingen onder studie.

#### 5.4.2 Experimentele opzet

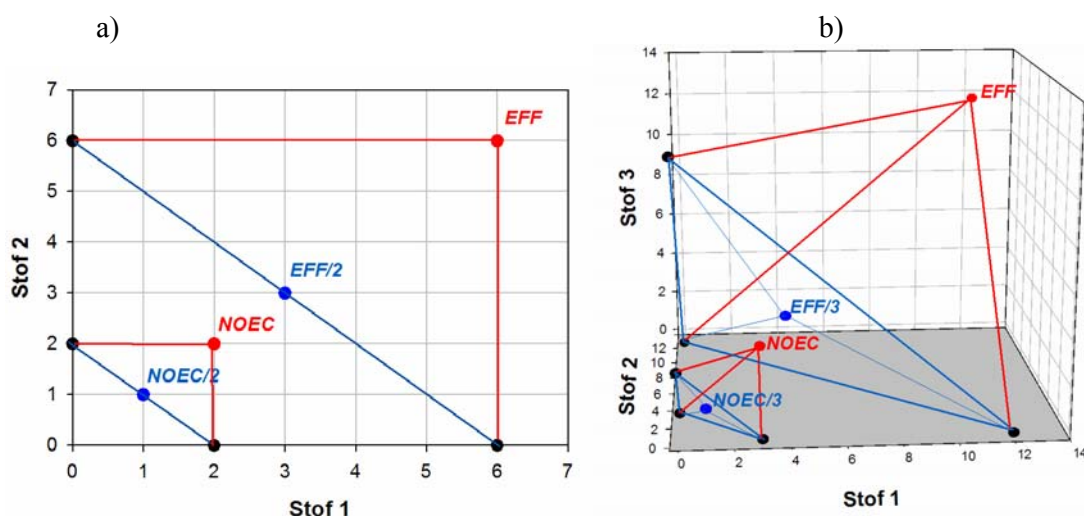
In totaal werden 3 gebromeerde brandvertragers (TBBPA, HBCD en dBDE) en 3 perfluorverbindingen (PFOS, PFOA en PFBE) geselecteerd voor de toxiciteitstesten op basis van hun frequent voorkomen in humane blootstellingsroutes (voeding, huisstof, ...). TBBP-A, HBCD en Deca-BDE (BDE-209) zijn bovendien belangrijke milieurelevante vlamvertragers (Legler, 2008).

Voor beide testsystemen werd eerst vertrokken van een algemene cytotoxiciteitstest, om te voorkomen dat de concentraties die gekozen werden voor de eigenlijke toxiciteitsmeting zouden leiden tot celsterfte. Telkens werden de hoogste concentratie die geen significante cytotoxiciteit vertoonde, gekozen voor verdere analyses.

In eerste instantie werden de enkelvoudige stoffen gekarakteriseerd aan de hand van dosis-respons analyses. De concentratie-afhankelijkheid van een respons is namelijk bepalend voor het kunnen toewijzen van een effect aan een stof. Op basis van deze dosis-respons analyses kan vervolgens een concentratie geselecteerd worden die geen effect induceert (NOEC of no

observed effect concentratie) evenals een concentratie die duidelijk effect induceert (EFF- of effectconcentratie). Deze effectconcentratie werd geselecteerd als de hoogste actieve concentratie die geen cytotoxiciteit en een goede oplosbaarheid vertoonde. Deze twee geselecteerde concentraties zullen gebruikt worden bij het evalueren van het mengseleffect.

Zowel binaire als tertiaire mengsels werden opgesteld om alle mogelijke combinaties van telkens de 3 gebromeerde vlamvertragers of de 3 perfluorverbindingen te bestuderen. Voor elke combinatie werden vervolgens de NOEC-concentraties of de EFF-concentraties samengevoegd, evenals de NOEC-concentraties en de EFF-concentraties gedeeld door het aantal stoffen in het mengsel (2 of 3) (figuur 3.). Het louter samenvoegen van de concentraties geeft vb. voor de NOEC-concentratie een duidelijk beeld of concentraties van enkelvoudige stoffen die geen effect geven en een soort veilig blootstellingsniveau weerspiegelen, in combinatie met andere stoffen aan NOEC-concentraties een versterking van het effect vertonen (Walter *et al.*, 2002). Het delen van de samengevoegde concentraties door het aantal stoffen geeft dan weer bijvoorbeeld voor de EFF-concentratie een indicatie of een mengsel met equipotente concentratie het effect stimuleert of inhibeert ten opzichte van een enkelvoudige stof aan dezelfde concentratie. Bijkomend werd op deze manier ook het effect van de concentratie-afhankelijkheid van het mengseleffect geëvalueerd.



**Figuur 3.** Schematische voorstelling van de samenstelling van de mengsels: a) binaire mengsels, b) tertiaire mengsels

### ***Cat-tox test***

De cat-tox assay werd reeds met succes gebruikt in een grote verscheidenheid van studies (bvb Aubrecht *et al.* 1999; Dorsey *et al.* 2004; Van Den Heuvel *et al.* 2008).

De cat-tox assay bestaat uit 13 genetisch gemodificeerde humane HepG2 levercellijnen met elk een stressgevoelige promotor gebonden aan het *cat* gen dat codeert voor chloramphenicol acetyl transferase (Tabel 16.) (Todd *et al.* 1995). De 13 verschillende promotors zijn gevoelig voor een hele waaier van eindpunten zoals DNA- en proteïneschade, oxidatieve stress, blootstelling aan zware metalen en inductie van biotransformatie-enzymen. De resultaten van de 13 verschillende cellijnen worden relatief ten opzichte van de blanco weergegeven. Op deze manier wordt er voor elke stam een dosis-responsprofiel gegenereerd. De cat-tox assay wordt steeds uitgevoerd volgens eenzelfde protocol met drie herhalingen voor elke blootstelling en 4 blootstellingsconcentraties + 1 blanco (de respectievelijke cellijn blootgesteld aan het gebruikte solvent). De blootstellingsduur bedraagt 48 uur waarna de cellen worden gelyseerd en de hoeveelheid cat enzym via een commercieel beschikbare ELISA kit (Roche®) wordt gekwantificeerd. De resultaten worden uitgedrukt ten opzichte van de blanco. Voor elke cellijn beschikken we over een gekende positieve controle die voor kwaliteitscontroles steeds wordt meegenomen.

**Tabel 16.** Overzicht cat-tox promoters (HepG2, promotor::cat)

Afkorting	Type fusie construct	Beschrijving	Functie	Gevoeligheid
CYP1A1	Promotor	Cytochroom p450 IAI	Fase I biotransformatie enzym	PAK's, dioxinen
GSTY <sub>a</sub>	Promotor	Glutathione S transferase	Fase II biotransformatie enzym	PAK's, fenolische antioxidantia
XRE	Respons element	Xenobiotisch respons element	Bindingssite voor Ah-receptor	PAK's
HMT1IA	Promotor	Metallothioneine IIA	Binden van zware metalen	Zware metalen, glucocorticoiden
FOS	Promotor	c-fos proto-oncogen		Verhoogd c-AMP niveau
NFκBRE	Respons element	Nucleair factor κ binding site	Bindingssite voor NFκBRE transcriptiefactor	Oxidatieve stress, inflammatie
HSP70	Promotor	Heat shock protein		Proteinverstoring, temperatuur
CRE	Respons element	cAMP respons element	Bindingssite voor CREB proteïne	Tumor inductie, oxidatieve stress, DNA schade
P53RE	Respons element	p53 tumor suppressor bindingssite	Bindingssite voor p53 transcriptiefactor	DNA schade
RARE	Respons element	Retinoïnezuur responsief element		Retinoïden
GADD153	Promotor	153-kDa groeistop en DNA schade proteïne	Celcyclus regulatie	DNA schade, genotoxische agentia
GADD45	Promotor	45-kDa groeistop en DNA schade proteïne	Celcyclus regulatie	DNA schade en groei stop
GRP78	Promotor	78-kDa Glucose regulated protein	ER proteïne chaperone	Protein misfolding, DNA schade

De resultaten van de humane genprofielingsassay worden als significant beschouwd indien er aan onderstaande criteria wordt voldaan:

- visuele dosis-respons
- twee opeenvolgende fold inducties zijn statistisch significant verschillend van de controle (ANOVA, Dunett's test)

### ***MCF-7 oestrogeniteitstest***

Het bepalen van het endocrien verstorend karakter van een stof is een belangrijk element in het opmaken van een toxiciteitsprofiel van een stof. Verscheidene *in vitro* assays werden reeds ontwikkeld om stoffen die de werking van het vrouwelijk hormoon nabootsen te identificeren. De E-screen of MCF-7 celproliferatie test is een courant toegepaste *in vitro* oestrogeniteitstest die de toename in oestrogeen-geïnduceerde proliferatie van MCF-7 humane borstkankercellen meet als maat voor het oestrogeen karakter van een stof of een staal (Soto *et al.* 1995). Het is één van de meest gevoelige *in vitro* oestrogeniteitstesten en geeft relevante functionele informatie over de stoffen die met de estrogen receptor (ER) binden. In dit project werd een robuuste en snellere variant van deze test gebruikt, gebaseerd op flow cytometrische celcyclusanalyse (Vanparys *et al.* 2006). Met deze techniek wordt de DNA-hoeveelheid in iedere cel afzonderlijk gekwantificeerd met behulp van eenvoudige DNA-kleuringstechnieken (o.a. propidium iodide), waardoor de cellen kunnen ingedeeld worden in de verschillende celcyclus-fasen. Het percentage cellen in de S(yntese)-fase na 24u blootstelling vormt een maat voor de stof-geïnduceerde re-inductie van proliferatie na synchronisatie van de cellen in de G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-fase van de celcyclus. Daar proliferatie in de MCF-7 cellijn oestrogeen-gevoelig is, kan het proliferatief effect van een stof rechtstreeks een waarde geven voor oestrogeniteit. De MCF-7 proliferatie test wordt telkens uitgevoerd volgens dezelfde procedure. Vierentwintig uur na uitzaaien van de cellen wordt het medium vervangen door steroid-arm medium. Hierdoor valt de celdeling stil en na 72u zijn de MCF-7 cellen volledig gesynchroniseerd in de G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-fase van de celcyclus. Vervolgens wordt gedurende 24h blootgesteld aan een stof/extract. Na blootstelling worden de cellen geogst en gefixeerd in propidium iodide-buffer en na 3u gemeten met de flow cytometer. Van elke stof en van de positieve controle (17β-estradiol) wordt een verdunningsreeks van 8 concentraties in drievoud geanalyseerd. Als controle op het ER-gemedieerde karakter van de respons, wordt tevens voor elke stof een blootstelling in aanwezigheid van een ER-blocker (100nM ICI 182,780) uitgevoerd. Indien de



proliferatieve respons wegvalt is de gemeten respons zuiver oestrogeen; indien de proliferatieve respons blijft, kan dit wijzen op een additioneel effect van de stof op de celcyclus (o.a. celcyclus-arrest). Het percentage cellen in S-fase van een stof wordt vergeleken met de gemeten respons van het natuurlijk oestrogeen, 17 $\beta$ -estradiol, en kan vervolgens uitgedrukt en gerangschikt worden volgens Relatief Proliferatief Effect (RPE; maximaal effect uitgedrukt in % ten opzichte van 17 $\beta$ -estradiol (100%)) en Relatief Proliferatieve Potentie (RPP;  $EC50_{stof}/EC50_{17\beta\text{-estradiol}}$ ). Deze techniek werd in onze onderzoeksgroep op punt gesteld en gevalideerd voor zowel zuivere stoffen als complexe mengsels.

### 5.4.3 Resultaten en bespreking

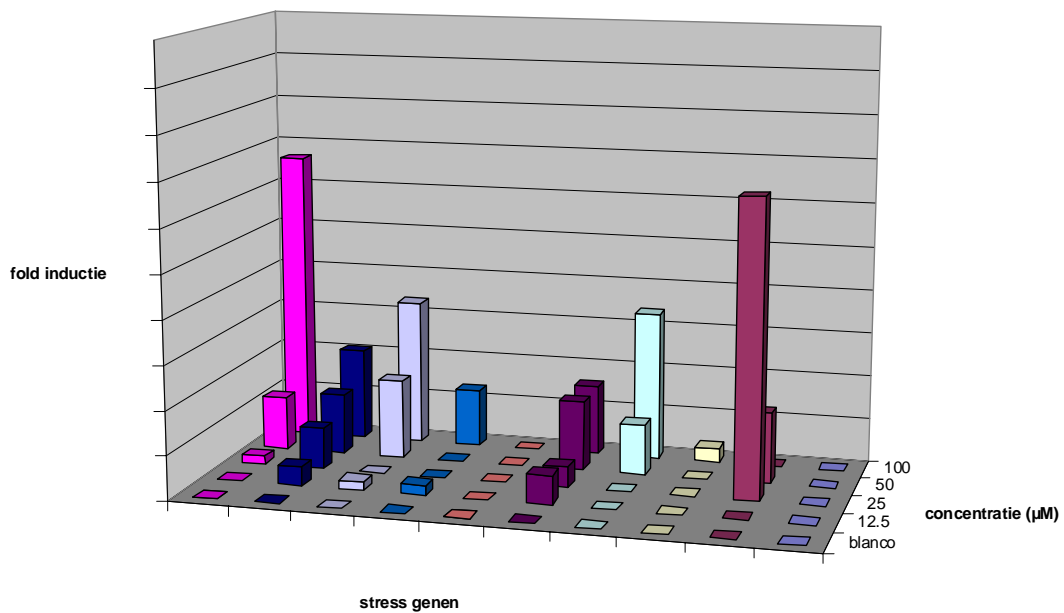
#### **5.4.3.1 Cat-tox assay**

##### *Cytotoxiciteit*

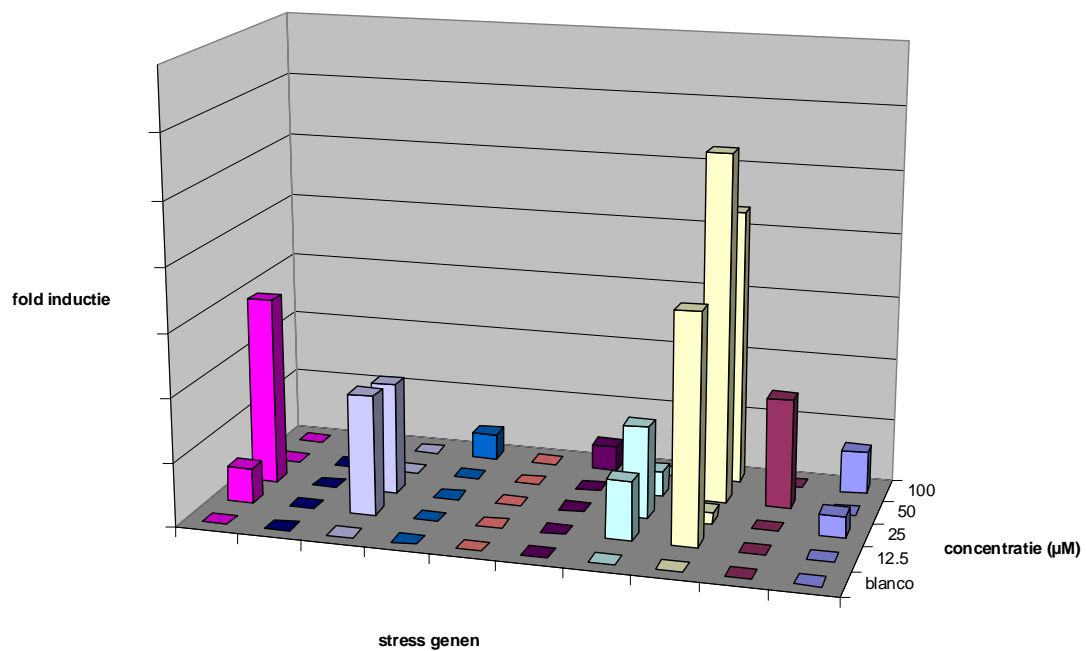
Voor de individuele geselecteerde perfluorverbindingen (PFOS, PFOA en PFBS) werd er geen cytotoxiciteit waargenomen na blootstelling aan de geselecteerde concentraties. Ook voor dBDE en HBCD werd er geen cytotoxiciteit gemeten tot de hoogst oplosbare concentratie van 100  $\mu$ M. Na blootstelling aan TBBPA werd er cytotoxiciteit gemeten vanaf een blootstellingsconcentratie van 125  $\mu$ M. Als hoogste blootstellingsconcentratie voor de cat-tox test werd dan ook 100  $\mu$ M getest voor de drie geselecteerde vlamvertragers.

##### *Individuele componenten*

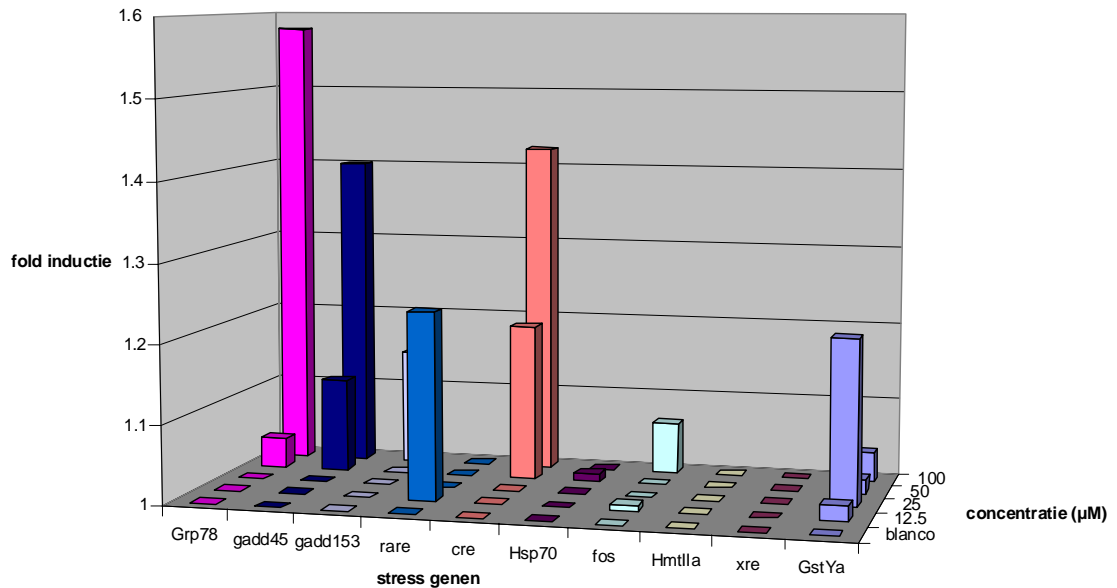
De individuele cat-tox genexpressieprofielen tonen duidelijke dosis respons profielen en significante inducties na blootstelling aan de verschillende geselecteerde vlamvertragers. Na blootstelling aan TBBPA (figuur 4.) werden significante inducties gevonden voor een aantal markers gerelateerd aan DNA-schade (Fos, Gadd153 en Gadd45) en voor beide markers die wijzen op verstoring van de eiwitvouwing (Hsp70 en Grp78). De cat-tox test na blootstelling aan dBDE (figuur 6.) resulteerde in significante inducties voor Cre, Gadd45 en Grp78, terwijl na blootstelling aan HBCD (figuur 5.) enkel HmtIIa (DNA-schade merker) significante inducties vertoonde.



**Figuur 4.** Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan TBBPA.



**Figuur 5.** Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan HBCD.



**Figuur 6.** Genexpressieprofiel (cat-tox test) na blootstelling aan dBDE.

Na blootstelling aan de individuele perfluorverbindingen (figuren werden niet weergegeven) werden volgende significante inducties waargenomen:

PFOS: GstYa en Xre (faseI en faseII biotransformatieenzymen) en Rare (gevoelig voor retinoïden)

PFOA: GstYa

PFBS: Xre, HmtIIa (gevoelig voor zware metalen en DNA schade) en Rare

De significante inducties die werden waargenomen na blootstelling aan de individuele stoffen verschillen tussen beide groepen van stoffen. De promoters die significant werden geïnduceerd na blootstelling aan de geselecteerde vlamvertragers behoren tot de klasse van de DNA-schade merkers en verstoring van de eiwitvouwing (Hsp70 en Grp78). Deze beide merkers in de cat-tox test vertegenwoordigen zowel verstoring van de eiwitvouwing in het cytoplasm (Hsp70) als in het endoplasmatisch reticulum (Grp78). De opregulatie van deze beide merkers werd eerder in een *in vitro* studie teruggevonden na blootstelling aan gebromeerde difenylethers (PBDE's). Deze genexpressiestudie werd uitgevoerd met de humane H295R adrenocorticale carcinomacellijn en toont aan dat na blootstelling aan PBDE's er transcriptionele veranderingen zijn ter hoogte van het endoplasmatisch reticulum

en misvouwing van eiwitten (Song *et al.*, 2009). Het feit dat deze klasse van genen bij verschillende gebromeerde vlamvertragers en in verschillende studies op een belangrijke wijze beïnvloed zijn, maakt hen mogelijk kandidaat biomerkers.

Na blootstelling aan de perfluorverbindingen zien we vooral inducties van genen gerelateerd aan biotransformatie (GstYa en Xre). De inductie van GstYa en Xre promoters na blootstelling aan perfluorverbindingen wijst op een mogelijke betrokkenheid van de faseII biotransformatie mechanismen. De mate waarin de levercellen in staat zijn om te detoxificeren is positief gecorreleerd met de hoeveelheid biotransformatie-enzymes die worden geproduceerd (Tchounwou *et al.*, 2001).

### Mengsels

Op basis van de resultaten van de enkelvoudige stoffen werden de concentraties voor het mengselexperiment vastgelegd (tabel 17.).

**Tabel 17.** Concentraties van de individuele componenten voor de samenstelling van de binaire en tertiaire mengsels.

	Gebromeerde vlamvertragers			Perfluorverbindingen		
	TBBPA	HBCD	dBDE	PFOS	PFOA	PFBS
NOEC ( $\mu\text{M}$ )	25	12.5	12.5	250	500	500
EFF ( $\mu\text{M}$ )	100	100	100	1000	1000	1000

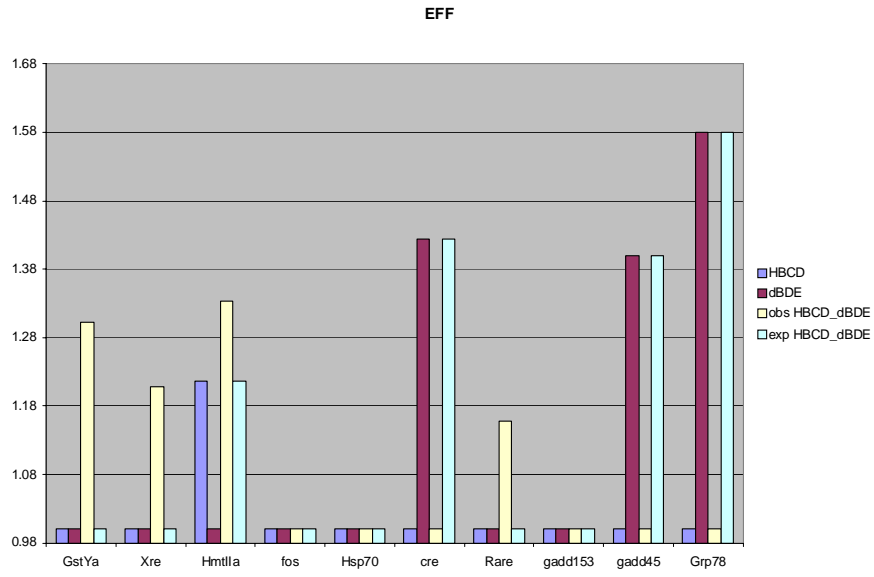
NOEC: no observed effect concentratie = concentratie waarbij geen significant effect werd gemeten (Dunett's test,  $p < 0,05$ ). MAX/EFF: concentratie met maximaal geïnduceerde effect

De binaire en tertiaire mengsels (fig 7.) werden samengesteld zoals beschreven in de experimentele opzet. De binaire en tertiaire mengsels van zowel de perfluors als de vlamvertragers uitgevoerd aan NOEC en NOEC/2 concentraties leverden geen significante inducties op, er werden geen additionele mengseleffecten waargenomen.

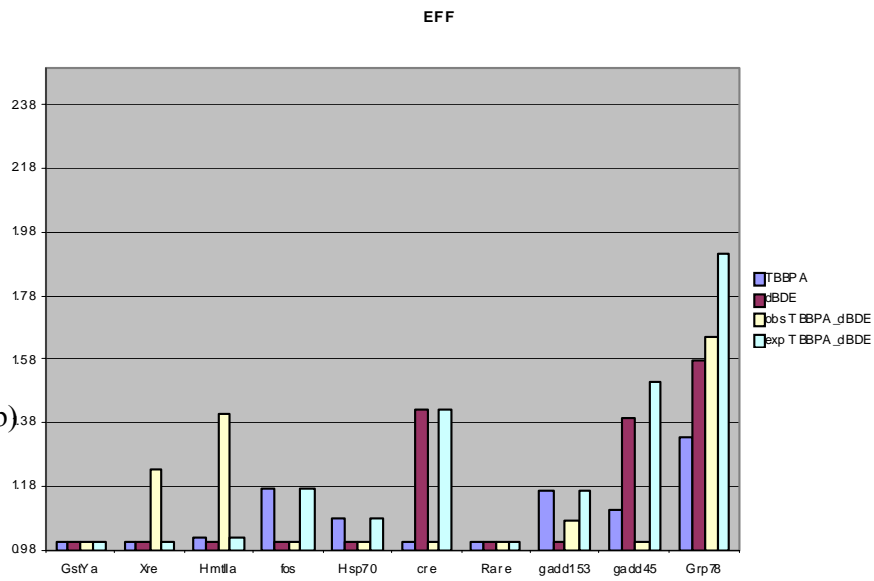
De binaire en tertiaire blootstellingen aan de EFF-waarden toonden voor de vlamvertragers opmerkelijke resultaten. De binaire mengsels in figuur 7. tonen de individuele profielen van de vlamvertragers, de verwachte respons (uitgaande van sommatie van de individuele responsen) en de waargenomen respons. We zien voor de meeste genen dat wanneer er inductie is na blootstelling aan de individuele stoffen (blauwe en rode blokken) dit niet wordt teruggevonden in de waargenomen respons van het mengsel (gele blokken). Dit fenomeen werd eveneens gevonden bij het tertiaire mengsel. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat de binaire en tertiaire mengsels cytotoxisch zijn, en er dus geen signaal op niveau van

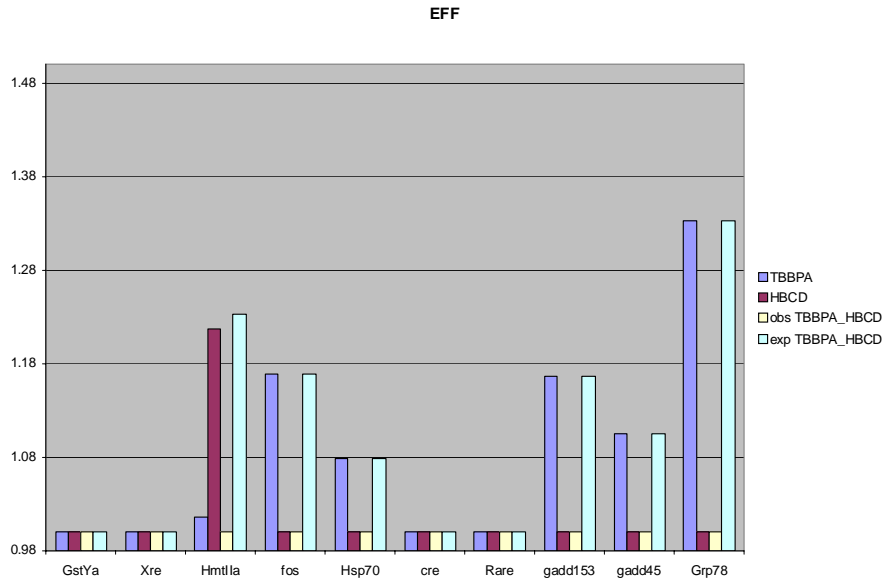
genexpressie kan gemeten worden. Dit werd nagegaan via een cytotoxiciteitstest met de binaire en tertiaire mengsels (figuur 8.). Deze resultaten tonen duidelijk aan dat bij blootstelling aan EFF-waarden van de gebromeerde vlamvertragers de viabiliteit van de cellen met 4/5 afneemt. De combinatie van niet-cytotoxische individuele concentraties in een binair/tertiair mengsel geven aanleiding tot een cytotoxisch mengsel, dit wijst op een versterking van het cytotoxische effect. De binaire en tertiaire mengsels na blootstelling aan de perfluorverbindingen vertoonden geen cytotoxiciteit, en ook geen additionele mengseffecten.

a)



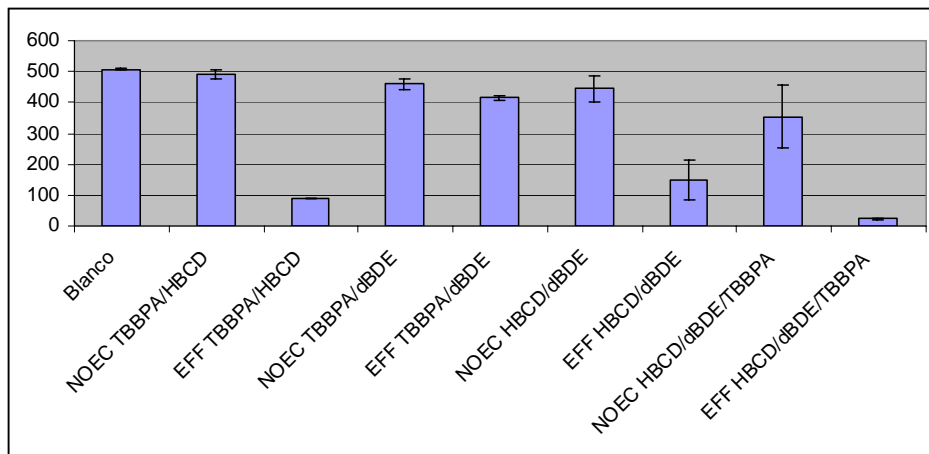
b)





c)

**Figuur 7.** Individuele profielen van de vlamvertragers (blauwe en rode blokken) en de binaire mengsels aan de EFF concentratie, de verwachte respons (uitgaande van sommatie van de individuele responsen) (licht blauwe blokken) en de waargenomen respons (gele blokken).



**Figuur 8.** Cytotoxiciteitsassay na blootstelling van HepG2 levercellen aan binaire en tertiaire mengsels van gebromeerde vlamvertragers. x-as: NOEC en EFF concentraties zoals beschreven in tabel 17. Y-as: RFU (relatieve fluorescentie eenheden) als maat voor cytotoxiciteit.

### *Discussie Cat-tox*

De cytotoxiciteitstesten tonen aan dat de geselecteerde vlamvertragers bij lagere concentraties cytotoxiciteit veroorzaken dan de geselecteerde perfluorverbindingen. Eveneens werd op niveau van genexpressie met de cat-tox test vastgesteld dat de geselecteerde vlamvertragers meer significante inducties vertonen dan de perfluorverbindingen en dit reeds bij tienmaal lagere blootstellingsconcentraties. Rekening houdend met de beperkte setup van eindpunten in de cat-tox test kunnen we stellen dat na blootstelling aan de geselecteerde vlamvertragers vooral verstoring van de eiwitvouwing en DNA-schade wordt vastgesteld, terwijl na blootstelling aan de geselecteerde perfluorverbindingen vooral detoxificatiemechanismen worden geactiveerd in de levercellen. Deze eindpunten kunnen mogelijks verder geëvalueerd worden als mogelijke biomerkers, daar ze instaan voor algemene toxiciteitsmechanismen kunnen ze zeker niet als unieke biomerkers beschouwd worden om blootstelling aan perfluors/gebromeerde vlamvertragers in kaart te brengen. Een verdere evaluatie van deze eindpunten zou kunnen bestaan uit een combinatie van in vitro experimenten met chemische analyses en dit voor verschillende perfluors/gebromeerde vlamvertragers en bij meerdere concentraties. De binaire en tertiaire mengselexperimenten tonen aan dat er geen additionele mengseleffecten zijn na blootstelling aan NOEC en NOEC/2 concentraties. De mengselexperimenten aan de EFF-concentratie (concentratie van de individuele stoffen die een effect geven) tonen aan dat er additionele toxiciteitseffecten zijn na blootstelling aan zowel de binaire als tertiaire mengsels van de vlamvertragers, waardoor er op niveau van genexpressie geen inducties konden worden waargenomen. Deze additionele toxiciteit na blootstelling aan mengsels van gebromeerde vlamvertragers is belangrijk voor verdere risico-evaluatie waarbij complexe mengseltoxiciteit ook in beschouwing moet worden genomen daar in het milieu zeer complexe mengsels voorkomen.

#### **5.4.3.2 MCF-7 oestrogeniteitstest**

##### *Cytotoxiciteit*

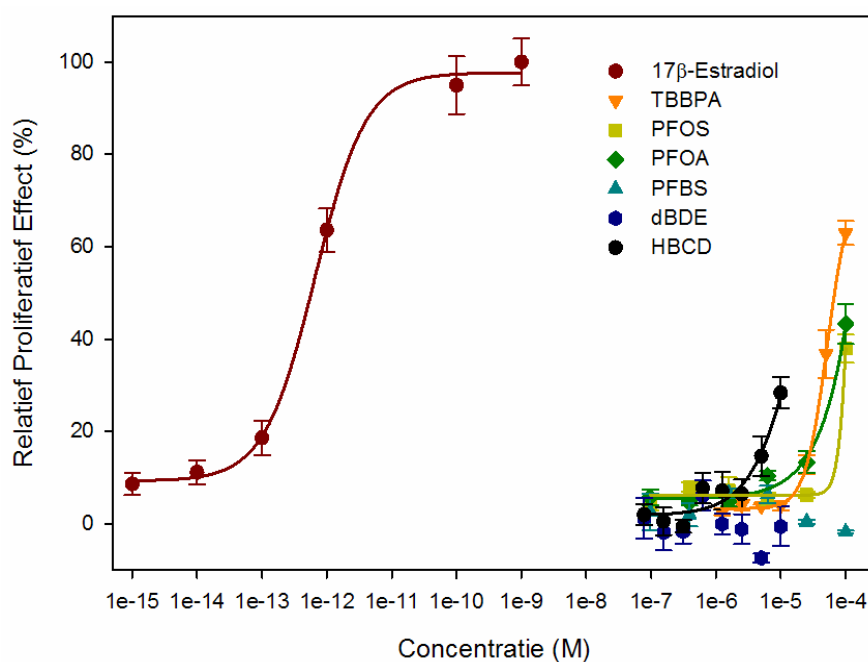
Aan de hand van de AlamarBlue cytotoxiciteitstest werden van de 6 stoffen niet-cytotoxische concentraties bepaald voor de verdere analyse van oestrogeniteit. Voor de perfluorverbindingen PFOS, PFOA en PFBS werd weinig cytotoxiciteit gemeten tot de hoogst geteste concentratie (1 mM). Aangezien bij deze concentratie een duidelijke uitvlokking werd gezien en de perfluorverbindingen minder stabiel zouden zijn bij dergelijke hoge concentraties, werd voor de eigenlijke oestrogeniteitstest een hoogste concentratie van 100



$\mu\text{M}$  gebruikt. Voor TBBP-A en HBCD werd geen cytotoxiciteit gemeten bij de hoogste oplosbare concentratie, respectievelijk  $100\ \mu\text{M}$  en  $10\ \mu\text{M}$ . Voor dBDE werd een lichte daling in viabiliteit aangetoond vanaf  $2,5\ \mu\text{M}$ , die echter terug herstelde bij  $5$  en  $10\ \mu\text{M}$ . Hier is niet direct een verklaring voor, maar zou kunnen duiden op een daling in oplosbaarheid bij hogere concentraties.

### *Enkelvoudige stoffen*

Voor de zes stoffen werd telkens een  $\frac{1}{2}$  verdunningsreeks van 8 concentraties opgesteld, met als hoogste concentratie de concentratie bepaald in de cytotoxiciteitstest. Voor dBDE werd in eerste instantie een concentratierange tot  $100\text{nM}$  gedaan. Hiervoor werd geen oestrogene activiteit gemeten, waardoor beslist werd om de concentratie-range te verbreden tot  $10\ \mu\text{M}$ . Zowel voor dBDE als voor PFBS werd geen significante oestrogene activiteit gemeten. Enkel bij  $17\beta$ -estradiol, TBBP-A, HBCD, PFOA en PFOS was het mogelijk een correcte 4-parameter logistische regressie te fitten (Figuur 9.).



**Figuur 9.** Dosisrespons-curve voor de 6 teststoffen en de positieve controle,  $17\beta$ -Estradiol. Data worden voorgesteld als % Relatief Proliferatief Effect (RPE) ten opzichte van de maximale inductie met  $17\beta$ -Estradiol (100%), waarbij 0% de achtergrondproliferatie van de solvent controle (0,1% DMSO) aangeeft. Elk datapunt geeft het gemiddelde van 3 biologische replicaten en zijn standaard deviatie (vlag) weer.

Op basis van de vergelijking van de curve kon vervolgens een EC20-waarde en de daaruit volgende RPP-waarde worden berekend (Tabel 18). In het algemeen wordt de EC50-waarde gebruikt om de berekening van de RPP-waarden en hiermee de vergelijking tussen stoffen

mogelijk te maken. Aangezien hier een 50% activiteit meestal niet gehaald werd, werd geopteerd voor een EC20-waarde. Op deze manier worden evenzeer equipotente concentraties verkregen. De EC50-waarde van 17 $\beta$ -estradiol bedraagt 0,6 pM, wat duidt op een zeer gevoelig testsysteem, vergelijkbaar met een ER-CALUX test, maar beduidend gevoeliger dan de YES-test (Vanparrys *et al.*, 2006).

**Tabel 18.** Overzicht van de RPE<sub>max</sub>-waarden, EC20 waarden en de daaruit afgeleide RPP-waarden voor de verschillende teststoffen en 17 $\beta$ -Estradiol

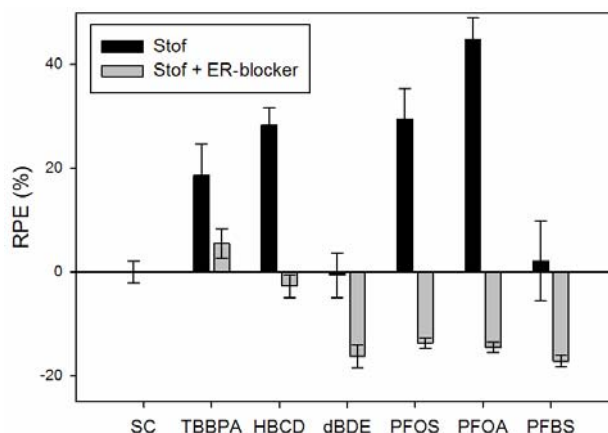
Stof	RPE <sub>MAX</sub> (%)	EC20 (M)	EC20 (mg/L)	RPP
17 $\beta$ -Estradiol	100	1,11E-13		1
TBBPA	62,9	3,29E-5	17,89	3,39*10 <sup>-9</sup>
HBCD	28,3	6,75E-6	4,33	1,65*10 <sup>-8</sup>
dBDE	6,1	/	(>9,59)	/
PFOS	37,9	8,50E-5	45,75	1,31*10 <sup>-9</sup>
PFOA	43,3	3,99E-5	16,52	2,79*10 <sup>-9</sup>
PFBS	6,7	/	(>29,9)	/

RPE<sub>MAX</sub>: maximaal relatief proliferatief effect (RPE) ten opzichte van 17 $\beta$ -Estradiol, EC20: de concentratie waarbij 20% RPE werd gemeten, RPP: relatief proliferatieve potentie ten opzichte van 17 $\beta$ -Estradiol (1).

De RPE<sub>max</sub> waarden tonen aan dat de stoffen slechts beperkte activiteit (<65%) vertonen ten opzichte van de positieve controle, 17 $\beta$ -estradiol (100%). Wanneer de maximale activiteit kleiner is dan 75% en groter dan 25%, wordt gesproken van partiële agonistische stoffen of matig oestrogene stoffen. Bij RPE<sub>max</sub>-waarden kleiner dan 25% spreken we van zwakke oestrogene stoffen. De RPE<sub>max</sub>-waarde van dBDE en PFBS zijn lager dan 10%. Deze stoffen zijn duidelijk niet-oestrogene stoffen. Indien we de RPE-waarden bekijken en vergelijken met gekende oestrogene stoffen, zoals bisphenol A (10<sup>-10</sup>), p,p'-DDT (10<sup>-6</sup>) en endosulfan (10<sup>-7</sup>) (Vanparrys *et al.*, 2006), dan zijn deze RPP-waarden en dus de potenties van deze stoffen zeer klein. De concentraties waarbij 20% activiteit werd gemeten (EC20) in de mg/L of  $\mu$ g/mL range, ongeveer 100x-1000x hoger dan gemeten concentraties in serum en moedermelk (ng/ml range).

Als controle op de estrogen receptor (ER)-gemedieerde werkingsmechanisme van de celproliferatie, werd tevens een ER-blocker experiment uitgevoerd. Dit wil zeggen dat bij een actieve concentratie van een stof of een concentratie met duidelijke celproliferatie, een ER-blocker werd toegevoegd (ICI 182,780) om na te gaan of het celproliferatief effect volledig wegvalt. Bij alle drie de perfluorverbindingen (PFOS, PFOA en PFBS) en bij de gebromeerde

vlamvertrager dBDE daalde het % relatief proliferatief effect tot ver onder nul (figuur 10). Dit is een indicatie dat toedienen van de blocker niet alleen het proliferatief effect van de teststoffen teniet doet, maar tevens de lichte proliferatie bij de solvent controle, door de lage gehalten oestrogenen die in het gestript serum aanwezig blijven, blokkeert. Hoewel het inhiberend effect van de ER-blocker bij TBBP-A en HBCD minder sterk is, is het RPE niet significant verschillend van de blanco-waarde (ANOVA, Dunnett's test,  $p < 0.05$ ). Het niet volledig wegvallen van het proliferatieve effect onder blootstelling met een ER-blocker, kan duiden op een alternatief werkingsmechanisme van de stof op de celproliferatie op zich, vb. induceren van celcyclus-arrest in de G<sub>2</sub>/M-fase waardoor ook het aantal cellen in de S-fase eveneens lichtjes stijgt.



**Figuur 10.** Relatief Proliferatief Effect (RPE, %) van een actieve concentratie van elke teststof, met (grijs) en zonder (zwart) toedienen van ER-blocker (ICI 182,780). SC = Solvent Controle (0,1% DMSO).

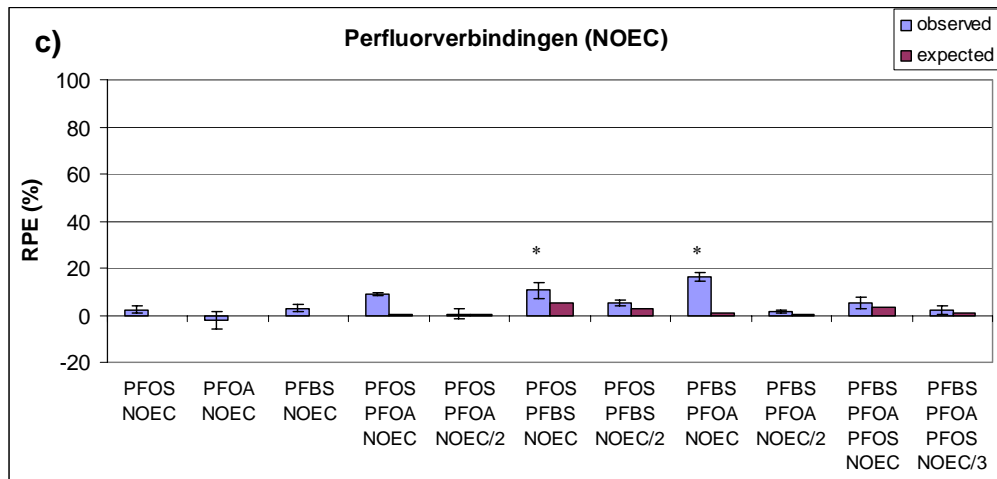
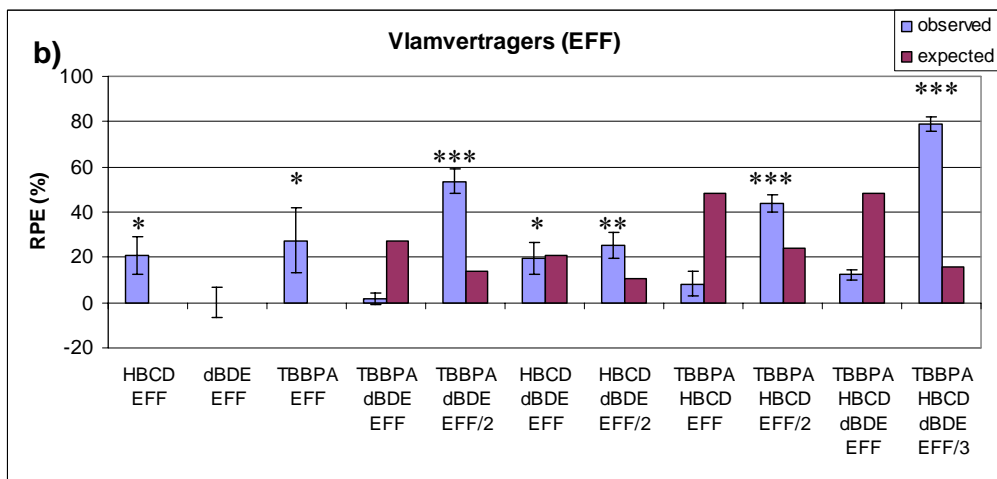
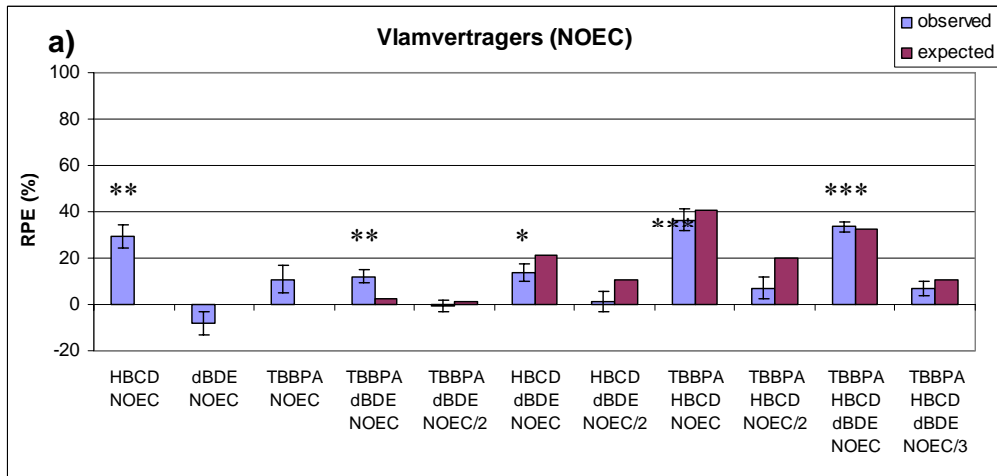
### Mengsels

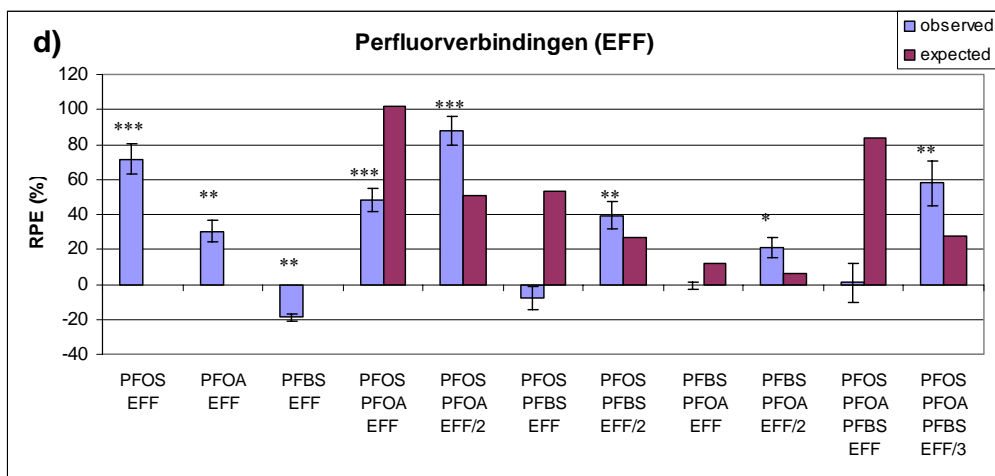
Op basis van de resultaten van de enkelvoudige stoffen werden de concentraties voor het mengselexperiment vastgelegd (tabel 19.)

**Tabel 19.** Geselecteerde NOEC en EFF concentraties voor de mengselblootstellingen op basis van de resultaten van de enkelvoudige stoffen.

	Gebromeerde vlamvertragers			Perfluorverbindingen		
	TBBPA	HBCD	dBDE	PFOS	PFOA	PFBS
NOEC ( $\mu\text{M}$ )	10	2.5	10	25	1.56	31.3
EFF ( $\mu\text{M}$ )	100	10	10	100	100	100

NOEC: no observed effect concentratie = concentratie waarbij geen significant effect werd gemeten (Dunnett's test,  $p < 0,05$ ). EFF: concentratie met een duidelijk geïnduceerd effect.





**Figuur 11.** Relatief Proliferatief Effect (RPE, %) van de enkelvoudige vlamvertragers en perfluorverbindingen en hun respectievelijke binaire en tertiaire mengsels bij de gekozen NOEC (a en c) en de EFF (b en d) concentratie. Naast de gemeten data (observed) werd eveneens het gesommeerde resultaat van de mengsel weergegeven (expected). Elk datapunt (observed) geeft het gemiddelde van 3 biologische replicaten en zijn standaard deviatie (vlag) weer. Sterretjes duiden op significante verschillen ten opzichte van de solvent controle weer (ANOVA, Dunett's post hoc, \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ ).

De effectanalyse van mengsels van stoffen aan hun individuele NOEC-concentraties, geeft een beeld over hoe indicatief de NOEC-concentratie bij enkelvoudige stoffen kan zijn voor complexe mengsels, zoals die voorkomen in een milieu. Bij de vlamvertragers gaf de NOEC-concentratie van HBCD echter wel effect (figuur 11a). Dit komt mogelijk door de hoge concentraties waaraan getest werd. Aangezien de concentraties van de stocks dicht tegen de oplosbaarheidsgrens zitten, kan een lichte verschuiving van de dosisrespons-curve niet uitgesloten worden. De mengseffecten van HBCD waren nooit significant verschillend van het enkelvoudige effect. Enkel het mengseffect van TBBPA en dBDE was significant verschillend van de solvent controle, in tegenstelling tot de enkelvoudige effecten. Indien we de waarden in figuur 11a bekijken, is dit waarschijnlijk eerder te wijten aan een lagere variatie in de mengselmetingen. Algemeen kunnen we stellen dat voor de vlamvertragers weinig mengseffecten bij de NOEC-concentraties kunnen vastgesteld worden. Bij de perfluorverbindingen daarentegen, werden wel significante mengseffecten gemeten bij de binaire mengsels van PFBS (figuur 11c), hoewel de stof zelf geen activiteit vertoonde over een concentratie range. Het binaire mengsel van PFOS en PFOA, daarentegen, vertoonde geen significant verschillende activiteit van de solvent controle.

Naast de NOEC-concentraties werd eveneens een actieve concentratie (EFF) gekozen om mengseffecten te bestuderen. Zowel voor de vlamvertragers als voor de perfluorverbindingen zien we een duidelijke daling in het proliferatief effect als beide EFF-concentraties worden toegevoegd ten opzichte van de enkelvoudige stoffen (figuur 11b en d).

Zoals ook voor de Cat-tox test, is hier duidelijk sprake van een stijging in toxiciteit in plaats van een antagonistische werking. Namelijk, indien we de EFF concentratie delen door het aantal stoffen dat toegevoegd werd, verkregen we wel telkens een verhoging van het proliferatief effect, waar dit voor antagonistische werkingsmechanismen niet zou verwacht worden. Voor de beide groepen stoffen, zien we telkens dat voor deze EFF/2 (binaire mengsels) of EFF/3 (tertiaire mengsels) het gemeten effect (observed) hoger ligt dan het te verwachten effect door sommatie (expected). Dit is mogelijk deels te verklaren door het sigmoïdale verloop van de RPE-respons. Voornamelijk in het exponentiële deel van de curve, zou het samenvoegen van 2 concentraties van dezelfde stof niet hetzelfde effect geven als het sommeren van de afzonderlijke effecten van de 2 concentraties. Niettemin kunnen we hier duidelijk stellen dat er additieve effecten optreden op het oestrogene karakter van perfluorverbindingen en vlamvertragers, wanneer zij in een mengsel voorkomen.

#### *Discussie MCF-7 oestrogeniteitstest*

De resultaten in de MCF-7 oestrogeniteitstest toonden aan dat TBBPA, zowel als HBCD mogelijks oestrogene activiteit bezitten, hetzij bij hele hoge, milieu niet-relevante concentraties (10-100µM). dBDE daarentegen vertoonde geen ER-gemedieerde celproliferatie. Vergelijking met literatuurgegevens maakt echter duidelijk dat meer onderzoek naar de endocrien versturende eigenschappen van deze stoffen vereist is, voor enige conclusie kan getrokken worden. In in vivo studies met vissen werd geen inductie van vitellogenine, een belangrijke biomarker van oestrogene activiteit bij vissen, gemeten bij zowel TBBP-A, HBCD en dBDE (Ronisz *et al.*, 2004). Hoewel in vivo knaagdierstudies wel duidelijk een oestrogene activiteit aan deze laatste BDE's (BDE-99 en BDE-47) toekende met o.a. een verminderd gehalte aan voortplantingshormonen (estradiol en testosteroone) en vervrouwelijking van het seksuele gedrag bij mannelijke nakomelingen na blootstelling van zwangere ratten en inductie van de nieuwe oestrogene biomarker calbindin-D9k in de uteri van blootgestelde juveniele ratten. Tevens vertoonden deze BDE's een duidelijke vitellogenine-inductie in in vitro vislevercellen (Nakari and Pessala, 2005). In mechanistische in vitro studies, zoals de estrogen receptor transactivatie test (ER-CALUX, Hamers *et al.*, 2006) werden geen oestrogene effecten voor TBBP-A, HBCD en een reeks BDE's (BDE-47, BDE-99, BDE-209) aangetoond. In de studie van Hamers *et al.* (2006) wordt echter enkel een indicatie gegeven van een EC50-waarde en niet van eventuele lagere EC-waarden. Voor HBCD en dBDE werd in deze studie eveneens geen EC50-waarden bereikt, wel voor TBBP-A, maar dan bij hogere concentraties (tot 100µM) dan gebruikt in de studie van Hamers *et al.*

(2006, tot 10 $\mu$ M). In de MCF-7 celproliferatietest en receptor bindingtest van Olsen *et al.* (2003) bleek TBBP-A dan weer wel een partieel agonist en induceerde het bovendien expressie van estrogen-responsive proteïnes zoals progesterone receptor (PgR) en pS2 of trefoil factor 2.

Naast de gebromeerde vlamvertragers TBBP-A en HBCD, werd in deze studie ook voor de twee perfluorverbindingen (PFOS en PFOA) een oestrogene activiteit gemeten. PFOS daarentegen vertoonde geen activiteit. Perfluorverbindingen werden in het verleden reeds beschreven als potentieel oestrogene stoffen in in vitro testen (Maras *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2007), hoewel dit voornamelijk aangetoond werd voor 6:2 FTOH and 8:2 FTOH en minder voor PFOS and PFOA. In de studie van Maras *et al.* (2006) werd hetzelfde testsysteem gebruikt als in deze studie, maar werd slechts bij één concentratie (50 $\mu$ M) gekeken naar het proliferatief effect van PFOS en PFOA. Hoewel een lichte stijging gezien werd van de S-fase ten opzichte van de solvent controle, werd beschreven dat er geen oestrogene activiteit gemeten werd. In deze studie echter bedraagt de maximale concentratie 100 $\mu$ M, waar wel een significante inductie werd gemeten. Uit de dosisrespons-curves en de berekende EC20-waarden (85 $\mu$ M en 40 $\mu$ M respectievelijk voor PFOS en PFOA) wordt bovendien duidelijk dat deze stoffen slechts in een hele nauwe en hoge concentratierange oestrogene activiteit vertonen. Dit wordt bevestigd in de studie van Liu *et al.* (2007), waar in vitro vitellogenine-inductie werd gemeten in primaire levercellen van mannelijke tilapia (*Oreochromis niloticus*) na blootstelling aan PFOS en PFOA, die duidelijk estrogen receptor gereguleerd is. De in vivo oestrogene effecten van PFOS en PFOA zijn echter nog niet duidelijk.

#### 5.4.4 Besluit

Algemeen kunnen we concluderen dat zowel de gebromeerde vlamvertragers als de perfluorverbindingen een zekere mate van stress bij cellen kunnen induceren, waarbij duidelijke verschillen in werkingsmechanismen zichtbaar werden. Gebromeerde vlamvertragers gaan eerder inwerken op de DNA-schade processen en eiwitvouwing, terwijl de perfluorverbindingen eerder detoxificatieprocessen induceren. Beide groepen hebben duidelijk ook het potentieel in te werken op oestrogene processen, via interactie met de estrogen receptor, hoewel de potenties vergeleken met andere oestrogene stoffen zeer laag liggen. In deze studie werd eveneens een belangrijk stap gezet richting evaluatie van mengseleffecten, gezien dit de meest waarschijnlijke blootstellingsconditie is in het dagdagelijkse leven en in het milieu. Zowel voor de stress-inductie processen als voor oestrogeniteit werd een zeker mate van potentiëring of additiviteit gemeten door het

voorkomen van deze stoffen in mengsels. Bovendien toonden mengsels van perfluorverbindingen (voornamelijk PFBS) bij de individuele no observed effect concentratie (NOEC) een stijging in oestrogeniteit ten opzichte van de enkelvoudige stoffen. Dergelijke studies naar mengseffecten aan NOEC concentraties zijn zeer belangrijk, aangezien deze NOEC-waarden worden aanschouwd als indicatief voor het inbouwen van veiligheidsmarges voor blootstellingsenarior's in milieurisico evaluaties.

Het is belangrijk hierbij te benadrukken dat deze resultaten voortkomen uit *in vitro* studies en daarom een duidelijke omkadering vragen. *In vitro* testen hebben hun belang in onderzoek naar mogelijke werkingsmechanismen van een stof reeds aangetoond en kunnen hierin informatief genoeg zijn om een verder gericht *in vivo* onderzoek toe te laten. Deze resultaten kunnen echter nooit rechtstreeks geëxtrapoleerd worden naar de *in vivo* situatie. Bovendien zijn de concentraties waarbij mogelijke mechanismen voorkomen niet indicatief voor een mogelijk gelijkaardig mechanisme in de *in vivo* situatie. Er wordt namelijk gebruik gemaakt van een artificiële omgeving, d.w.z. de blootstelling gebeurt rechtstreeks op een monolaag cellen gegroeid in samengesteld medium. Hiermee worden belangrijke aspecten van de *in vivo* blootstelling achterwege gelaten, ondermeer verschillen in opname (verschillende blootstellingsroutes), distributie (bloedtransport), interacties tussen weefsels, metabolisatie en eliminatie. Maar net door hun eenvoud en door het weglaten van tal van versturende factoren, zijn *in vitro* systemen zeer geschikt en makkelijk interpreteerbaar om heel specifieke aangrijppingspunten en mechanismen, zoals het binden aan een receptor of het aanschakelen van een gen, van stoffen of mengsels te bestuderen.





## ***6. BFR- en PFC-specifieke risico analyse***

### **6.1. Inleiding**

In dit gedeelte van de BFRISK studie werd de blootstelling van de Vlaamse bevolking aan gebromeerde brandvertragers en aan perfluorverbindingen berekend. De blootstelling werd vergeleken met resultaten van andere Europese studies en afgetoetst aan beschikbare humaan toxicologische criteria. Voor het volledige overzicht van de blootstellingsanalyse wordt verwezen naar deelrapport III.

De resultaten dienen als een preliminaire inschatting te worden aanzien en met de nodige omzichtigheid te worden geïnterpreteerd. De resultaten van fase 2 geven immers aan dat rekening dient gehouden te worden met onder andere volgende factoren die in belangrijke mate de resultaten van de risico-analyse kunnen beïnvloeden:

- significante vastgestelde variabiliteit bij gemeten PFC-concentraties en detectielimieten;
- voor sommige blootstellingsroutes zijn er weinig tot geen Vlaamse gegevens en dienen veronderstellingen gemaakt te worden die misschien niet de Vlaamse situatie reflecteren;
- de toxicologische informatie en haar vertaling naar toetsingscriteria vertoont nog leemten, onder meer wat betreft de verschillende congenere (brandvertragers) en de verschillende perfluorverbindingen, de gevoelige bevolkingsgroepen en de interactie tussen de componenten.

### **6.2 Gevolgde methodologie**

#### **6.2.1 Algemeen**

Voor het bepalen van de blootstelling van de Vlaamse bevolking hebben we een model ontwikkeld dat volgende blootstellingsroutes meeneemt:

- inname via moedermelk en voeding;
- inname via contact met afgezet stof (woning, kantoren);
- inname via inademing van lucht (buiten, woning, kantoren, voertuigen).

Blootstelling door opname via de huid als gevolg van contact met bodem en stof en met water werd niet meegenomen. De bijdrage door contact met bodem en stof wordt als gering beoordeeld; de bijdrage via water is naar verwachting nihil voor brandvertragers (komen niet of nauwelijks voor in drinkwater), en kan niet ingeschat worden voor perfluorverbindingen.

Voor de brandvertragers werd de blootstelling berekend voor volgende congenere: BDE 28, BDE 47, BDE 100, BDE 99, BDE 154, BDE 153, BDE 183, BDE 209, HBCD en de som van de congenere BDE 47, BDE 100, BDE 99, BDE 154, BDE 153 ( $\Sigma$ BDE<sub>5</sub>). De berekeningen zijn het meest nauwkeurig voor deze laatste vijf congenere, omdat daarvoor de meeste invoergegevens voorhanden zijn. Voor de overige congenere waren minder of – voor bepaalde compartimenten – geen gegevens voorhanden. Voor de perfluorverbindingen werd

de blootstelling berekend voor PFOS en PFOA. Voor de overige perfluorverbindingen lag het merendeel van de beschikbare metingen onder de bepalingsgrens of ontbraken metingen.

De blootstelling werd berekend voor verschillende leeftijdsklassen:

- zuigelingen tot 0,5 jaar onder aanname van uitsluitend borstvoeding;
- kinderen in de leeftijden 3 - < 6 jaar; 6 - < 10 jaar en 10 - < 15 jaar (voor kinderen in de leeftijd 0,5 – <1 jaar en 1 - < 3 jaar werd geen blootstelling via voeding berekend, wel via de andere routes);
- volwassenen (vanaf 15 jaar)

Op basis van het belang van de arbeidsplek in de blootstelling, werd voor volwassenen rekening gehouden met niet-werkenden en voltijds werkenden. De tijd besteed aan betaalde arbeid werd gelijkgesteld aan tijd op kantoor.

De inname via moedermelk werd berekend door gebruik te maken van leeftijdsafhankelijke waarden bij uitsluitend moedermelkgevoede kinderen. De inname via voeding werd voor kinderen berekend op basis van de data in het XtraFood model (Seuntjens *et al.*, 2006). Er werd alleen een gemiddelde inname berekend. Schatting van de variatie op de inname gebeurde door vergelijking met de data voor volwassenen. Voor volwassenen werd gebruik gemaakt van de data van de Belgische Voedselconsumptiepeiling (De Vriese *et al.*, 2006). De inname via voeding werd per individu uit de peiling berekend en via statistische verwerking (Tooze *et al.*, 2006) met de Mixtran en Distrib macro's in een SAS-omgeving omgezet naar gebruikelijke inname. Voor volwassenen zijn daardoor zowel de gemiddelde inname via voeding als de percentiele innames beschikbaar.

Voor de inname via milieu maakten we gebruik van de tijdsbestedingsgegevens uit Vlaanderen (Glorieux en Minnen, 2008) voor volwassenen en van de gegevens uit de BOHO-studie voor kinderen. Waarden voor ademvolumes zijn afkomstig uit de literatuur (Brochu *et al.*, 2006), waarden voor inname van bodemdeeltjes en afgezet stof zijn afgeleid uit de studie van Van Holderbeke *et al.* (2007). Een overzicht van de innameparameters is gegeven in Tabel 20.

Om de variatie op de blootstellingsparameters en hun invloed op de blootstelling in kaart te brengen, werd voor de leeftijdsgroep 3 - > 6 jaar en 21 - < 31 jaar een MonteCarlo simulatie uitgevoerd voor de milieublootstelling. De variatie voor de blootstelling via voeding volgt voor volwassenen uit de methodiek voor voeding, voor kinderen werd ze benaderd door een gelijke relatieve standaarddeviatie en gelijke verdelingscurve te veronderstellen als voor volwassenen. De variatie op de inname via moedermelk werd eveneens berekend via MonteCarlo simulatie.

**Tabel 20.** Overzicht van de waarden voor de gedefinieerde blootstellingsparameters

leeftijd (jaar)	0-0,5	0,5 - <1	1 - < 3	3 - < 6	6 - < 10	10 - < 15	15 - < 21	21 - < 31	31 - < 41	41 - < 51	51 - < 61	61 - < 71	> 71
lichaamsgewicht (kg)	6	8,7	12,3	17,6	26,8	44,4	62,5	68,5	70,5	71	74	72,5	72,5
tijd slapen (h/d)	15,5	14,8	12	11	10	9	8	8	8	8	8	8	8
tijd buiten werkenden (h/d)	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	0,4	0,65	0,65	0,78	0,55	2	0
tijd werken werkenden (h/d)	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	4,82	4,85	4,85	4,95	5,59	3,78	0
tijd vervoer werkenden (h/d)	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	1,09	1,27	1,27	1,24	1,14	1,29	0
tijd buiten niet-werkenden (h/d)	1	1	2	3,27	3,27	1,28	0,91	0,87	0,87	0,61	0,8	0,85	0,69
tijd werken niet-werkenden (h/d)	0	0	0	0	0	0	0,62	0,35	0,35	0,37	0,07	0,03	0
tijd vervoer niet-werkenden (h/d)	0,25	0,25	0,25	0,5	0,5	0,48	0,74	0,65	0,65	0,94	0,82	0,73	0,37
wakkere tijd binnen werkenden (h/d)							9,69	9,23	9,23	9,03	8,72	8,93	16
wakkere tijd binnen niet-werkenden (h/d)	7,25	7,95	9,75	9,23	10,23	13,24	13,73	14,13	14,13	14,08	14,31	14,39	14,94
tijd binnen werkenden (h/d)							17,69	17,23	17,23	17,03	16,72	16,93	
tijd binnen niet-werkenden (h/d)	22,75	22,75	21,75	20,23	20,23	22,24	21,73	22,13	22,13	22,08	22,31	22,39	22,94
ademvolume (m <sup>3</sup> /kg.d)	0,509	0,479	0,48	0,444	0,372	0,3	0,3	0,247	0,237	0,23	0,23	0,23	0,188
inname bodem (mg/d)	0	63	63	63	54,5	54,5	46	46	46	46	46	46	46
inname stof (mg/h)	0	5,23	5,23	2,06	1,5	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48

### 6.2.2 Invoergegevens

In het project werden stalen van levensmiddelen met Vlaamse herkomst geanalyseerd, ook werd afgezet stof bemonsterd. Bij het berekenen van de blootstelling werden gegevens uit buitenlandse studies meegenomen in volgende gevallen:

- Levensmiddelen op de Belgische (Vlaamse) markt zijn niet alleen afkomstig uit België; het was noodzakelijk om rekening te houden met concentraties in buitenlandse producten.
- De dataset uit het project is beperkt. Uitbreiding met gegevens uit het buitenland verhoogt de statistische waarde van de databank. Voorwaarde is dat de situatie in het buitenland vergelijkbaar is met Vlaanderen en/of België.
- Er zijn geen of nauwelijks data beschikbaar voor Vlaanderen (bodem, lucht). Er werd een schatting gemaakt op basis van buitenlandse data.

Voor drinkwater, moedermelk en huisstof werden uitsluitend de Vlaamse data gebruikt. Voor voeding werd vergeleken met buitenlandse data en werden adequate buitenlandse data meegenomen. Voor bodem en lucht werden buitenlandse data opgezocht.

In het project werd gebruik gemaakt van de bepalingsgrens bij de rapportage van de metingen. In de literatuurdata vinden we zowel bepalingsgrenzen als aantoonbaarheidsgrenzen. Bovendien zijn deze waarden variabel. Bij de Vlaamse data werden de bepalingsgrenzen behouden, bij de literatuurdata werd meegenomen wat beschikbaar was. Voor huisstof en moedermelk werden statistische parameters berekend door gebruik van de p-waarde (vermenigvuldiging van de bepalingsgrens met de fractie van de metingen hoger dan de bepalingsgrens). Voor de projectdata van voeding, literatuurdata of combinatie van deze laatste met Vlaamse data werd een medium bound benadering gevolgd.

Om rekening te houden met de variatie op de concentraties, werd voor moedermelk en milieu (huisstof, bodem en lucht) telkens gerekend met een P50 en een P95 waarde. Mensen kunnen immers systematisch aan bepaalde concentraties blootgesteld zijn (variabiliteit tussen moeders, ruimtelijke variabiliteit in milieuconcentraties). De aard van de gegevens liet niet toe om distributies te schatten. Voor voeding werd alleen met een gemiddelde waarde gerekend omdat dit meer in overeenstemming is met het beeld van lange-termijnblootstelling via voeding.

De invloed van bereiding op de gehalten in levensmiddelen werd niet meegenomen. Hoewel enkele publicaties beschikbaar zijn, is het nog niet mogelijk dit te vertalen naar innameschattingen.

De invoergegevens voor brandvertragers zijn opgenomen in de tabellen 21. t.e.m. 24. De invoergegevens voor perfluorverbindingen zijn opgenomen in de tabellen 25 en 26.

**Tabel 21.** Concentraties van brandvertragers in moedermelk zoals gebruikt in de innameschatting (ng/g)

	<i>P50</i>	<i>P95</i>
BDE 28	2,79E-03	7,29E-03
BDE 47	3,75E-02	7,96E-02
BDE 100	6,21E-03	1,92E-02
BDE 99	1,10E-02	1,87E-02
BDE 154	5,44E-03	1,25E-02
BDE 153	3,12E-02	4,52E-02
BDE 183	7,27E-04	6,24E-03
BDE 197	0,00E+00	6,50E-03
BDE 196	0,00E+00	0,00E+00
BDE 203	0,00E+00	0,00E+00
BDE 209	1,98E-01	8,60E-01
HBCD	0,00E+00	1,17E-01
som BDE 5	9,26E-02	1,60E-01

**Tabel 22.** Gemiddelde concentraties van PBDE en HBCD in voeding, zoals gebruikt in de innameschattingen (ng/g vers gewicht)

Voedingsgroep	BDE 28	BDE 47	BDE 100	BDE 99	BDE 154	BDE 153	BDE 183	BDE 197	BDE 196	BDE 209	HBCD	somBDE5
Aardappelen en groenten	1,10E-04	2,16E-03	6,16E-04	1,70E-03	5,23E-04	8,42E-04	5,99E-04	5,54E-05	1,24E-04	3,84E-02	4,34E-03	5,86E-03
Fruit	0,00E+00	2,24E-03	5,68E-04	1,79E-03	3,70E-04	4,69E-04	7,02E-04	2,52E-03	1,19E-03	1,75E-02	1,52E-01	5,26E-03
Bier	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Boter	8,22E-03	8,59E-02	1,71E-02	9,51E-02	1,23E-02	1,20E-02	1,36E-03	3,13E-03	9,69E-03	7,12E-01	4,17E-02	2,23E-01
Boter halfvol	4,01E-03	4,19E-02	8,36E-03	4,64E-02	6,02E-03	5,87E-03	6,65E-04	1,53E-03	4,73E-03	3,47E-01	2,03E-02	1,09E-01
Boter vol	8,22E-03	8,59E-02	1,71E-02	9,51E-02	1,23E-02	1,20E-02	1,36E-03	3,13E-03	9,69E-03	7,12E-01	4,17E-02	2,23E-01
Ei	1,49E-04	7,69E-04	1,16E-04	2,07E-04	1,30E-03	1,51E-03	7,07E-04	3,92E-04	4,52E-04	4,79E-03	5,07E-04	3,90E-03
leidingwater en flessenwater	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Granen	0,00E+00	2,14E-02	3,00E-03	1,61E-02	3,74E-03	4,00E-03	1,22E-02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	4,83E-02
Kaas halfvet	1,97E-04	3,96E-03	1,17E-03	2,86E-03	5,62E-04	7,73E-04	1,50E-04	3,44E-04	1,06E-03	7,81E-02	4,58E-03	9,32E-03
Kaas mager	3,29E-05	6,60E-04	1,95E-04	4,76E-04	9,36E-05	1,29E-04	2,49E-05	5,73E-05	1,77E-04	1,30E-02	7,63E-04	1,55E-03
Kaas vet	4,39E-04	8,80E-03	2,61E-03	6,35E-03	1,25E-03	1,72E-03	3,32E-04	7,64E-04	2,36E-03	1,74E-01	1,02E-02	2,07E-02
Kaas zeer vet	5,48E-04	1,10E-02	3,26E-03	7,94E-03	1,56E-03	2,15E-03	4,16E-04	9,55E-04	2,95E-03	2,17E-01	1,27E-02	2,59E-02
Koffiemelk halfvol	9,32E-05	1,87E-03	5,54E-04	1,35E-03	2,65E-04	3,65E-04	7,06E-05	1,62E-04	5,02E-04	3,69E-02	2,16E-03	4,40E-03
Koffiemelk vol	1,64E-04	3,30E-03	9,77E-04	2,38E-03	4,68E-04	6,44E-04	1,25E-04	2,86E-04	8,86E-04	6,51E-02	3,82E-03	7,77E-03
Lever en orgaanvlees	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Melk halfvol	3,62E-05	7,26E-04	2,15E-04	5,24E-04	1,03E-04	1,42E-04	2,74E-05	6,30E-05	1,95E-04	1,43E-02	8,39E-04	1,71E-03
Melk mager	5,48E-05	1,10E-03	3,26E-04	7,94E-04	1,56E-04	2,15E-04	4,16E-05	9,55E-05	2,95E-04	2,17E-02	1,27E-03	2,59E-03
Melk vol	7,68E-05	1,54E-03	4,56E-04	1,11E-03	2,18E-04	3,01E-04	5,82E-05	1,34E-04	4,14E-04	3,04E-02	1,78E-03	3,63E-03
Noten, zaden	2,50E-03	1,00E-02	2,50E-03	2,50E-03	2,50E-03	2,50E-03	2,50E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,10E-01	2,50E-01	2,00E-02
Rijst	0,00E+00	4,50E-03	1,20E-03	2,40E-03	1,20E-03	1,20E-03	1,20E-03	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,05E-02
Room halfvol	4,39E-04	8,80E-03	2,61E-03	6,35E-03	1,25E-03	1,72E-03	3,32E-04	7,64E-04	2,36E-03	1,74E-01	1,02E-02	2,07E-02
Room vol	8,77E-04	1,76E-02	5,21E-03	1,27E-02	2,50E-03	3,44E-03	6,65E-04	1,53E-03	4,73E-03	3,47E-01	2,03E-02	4,14E-02
Schaaldieren, weekdieren halfvet	6,23E-02	1,85E-01	5,41E-02	6,50E-02	2,90E-02	6,66E-03	1,86E-02	1,90E-04	4,40E-04	1,84E-01	1,20E+00	2,72E-01
Schaaldieren, weekdieren mager	3,12E-02	8,28E-02	2,36E-02	5,19E-02	1,78E-02	1,23E-02	5,20E-03	0,00E+00	0,00E+00	8,11E-02	3,49E-01	2,16E-01
Vet dierlijk ander	4,37E-02	3,24E-01	8,82E-02	3,32E-01	4,03E-02	8,63E-02	7,92E-02	8,04E-02	9,66E-02	3,71E+00	8,17E-01	8,71E-01
Vet plantaardig	5,28E-03	2,54E-02	1,20E-02	4,12E-02	1,11E-02	1,22E-02	1,15E-02	1,26E-03	1,91E-03	1,25E-01	3,80E-01	1,05E-01
Visproducten	2,51E-01	2,76E+00	3,38E-01	2,57E-01	1,91E-01	9,55E-02	3,64E-02	0,00E+00	0,00E+00	1,81E-01	1,94E+01	5,66E+00
Vlees eend	3,28E-03	2,43E-02	6,61E-03	2,49E-02	3,02E-03	6,47E-03	5,94E-03	6,03E-03	7,24E-03	2,78E-01	6,13E-02	6,53E-02
Vlees fazant	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees hert	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees kalf halfvet	6,56E-03	4,86E-02	1,32E-02	4,98E-02	6,04E-03	1,29E-02	1,19E-02	1,21E-02	1,45E-02	5,56E-01	1,23E-01	1,31E-01
Vlees kalf mager	3,28E-03	2,43E-02	6,61E-03	2,49E-02	3,02E-03	6,47E-03	5,94E-03	6,03E-03	7,24E-03	2,78E-01	6,13E-02	6,53E-02
Vlees kalf vet	8,75E-03	6,49E-02	1,76E-02	6,64E-02	8,06E-03	1,73E-02	1,58E-02	1,61E-02	1,93E-02	7,42E-01	1,63E-01	1,74E-01
Vlees kalf zeer mager	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees kalkoen	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees kip	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees kip halfvet	6,56E-03	4,86E-02	1,32E-02	4,98E-02	6,04E-03	1,29E-02	1,19E-02	1,21E-02	1,45E-02	5,56E-01	1,23E-01	1,31E-01
Vlees kip mager	3,28E-03	2,43E-02	6,61E-03	2,49E-02	3,02E-03	6,47E-03	5,94E-03	6,03E-03	7,24E-03	2,78E-01	6,13E-02	6,53E-02
Vlees kip vet	8,75E-03	6,49E-02	1,76E-02	6,64E-02	8,06E-03	1,73E-02	1,58E-02	1,61E-02	1,93E-02	7,42E-01	1,63E-01	1,74E-01
Vlees kip zeer mager	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees konijn	3,28E-03	2,43E-02	6,61E-03	2,49E-02	3,02E-03	6,47E-03	5,94E-03	6,03E-03	7,24E-03	2,78E-01	6,13E-02	6,53E-02

Vlees kwartel	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees halfvet	6,56E-03	4,86E-02	1,32E-02	4,98E-02	6,04E-03	1,29E-02	1,19E-02	1,21E-02	1,45E-02	5,56E-01	1,23E-01	1,31E-01
Vlees mager	3,28E-03	2,43E-02	6,61E-03	2,49E-02	3,02E-03	6,47E-03	5,94E-03	6,03E-03	7,24E-03	2,78E-01	6,13E-02	6,53E-02
Vlees vet	8,75E-03	6,49E-02	1,76E-02	6,64E-02	8,06E-03	1,73E-02	1,58E-02	1,61E-02	1,93E-02	7,42E-01	1,63E-01	1,74E-01
Vlees zeer mager	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees paard	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees parelhoen	1,09E-03	8,11E-03	2,20E-03	8,30E-03	1,01E-03	2,16E-03	1,98E-03	2,01E-03	2,41E-03	9,27E-02	2,04E-02	2,18E-02
Vlees rund	6,56E-03	4,86E-02	1,32E-02	4,98E-02	6,04E-03	1,29E-02	1,19E-02	1,21E-02	1,45E-02	5,56E-01	1,23E-01	1,31E-01
Vlees varken	6,56E-03	4,86E-02	1,32E-02	4,98E-02	6,04E-03	1,29E-02	1,19E-02	1,21E-02	1,45E-02	5,56E-01	1,23E-01	1,31E-01
Zeevis halfvet	4,86E-02	7,31E-01	1,88E-01	8,76E-02	6,11E-02	2,43E-02	4,47E-03	3,50E-04	5,50E-04	2,21E-01	6,30E-01	1,09E+00
Zeevis mager	2,37E-02	1,95E-01	6,05E-02	1,82E-02	2,81E-02	7,43E-03	2,11E-02	2,46E-03	1,92E-03	1,42E-01	1,77E-01	2,67E-01
Zeevis vet	6,22E-02	9,94E-01	2,18E-01	2,49E-01	7,14E-02	3,38E-02	1,36E-02	2,36E-03	4,98E-03	3,37E-01	9,13E-01	1,53E+00
Zoetwatervis halfvet	2,58E-02	3,33E-01	1,10E-01	2,63E-01	3,10E-02	5,64E-02	2,90E-02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,81E-01	1,33E+00
Zoetwatervis vet	3,97E-01	1,55E+01	8,68E+00	7,37E-01	1,11E+00	9,10E-02	7,00E-02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	3,66E-01	6,64E+01

**Tabel 23.** P50 en P95 concentraties van PBDE en HBCD in afgezet stof en in bodem, zoals gebruikt in de innameschattingen (ng/g)

	huisstof		kantoorstof		bodem	
	P50	P95	P50	P95	P50	P95
BDE 28	0,38	1,05	2,10	5,26	0,013	0,06
BDE 47	8,15	62,37	21,10	61,47	0,108	16,02
BDE 100	1,09	12,11	6,83	20,32	0,046	4,01
BDE 99	8,95	109,54	45,41	132,90	0,233	13,37
BDE 154	0,92	4,70	5,49	87,05	0,026	2,42
BDE153	2,24	43,89	12,07	663,04	0,046	2,49
BDE 183	1,37	9,47	23,80	3089,56	0,015	16,91
BDE 197	0,91	5,35	9,46	1199,71	0,005	1,52
BDE 196	2,28	8,32	6,65	632,57	0,070	3,26
BDE 203	1,02	8,23	4,68	452,51	0,005	2,53
BDE 209	313,02	1512,89	442,78	6679,34	1,500	1193,80
HBCD	140,33	4092,74	1288,73	5836,79		
som BDE 5	29,04	241,59	92,23	867,35	0,494	37,32



**Tabel 24.** Concentraties van PBDE en HBCD in lucht, zoals gebruikt in de innameschattingen (pg/m<sup>3</sup>)

	buitenlucht		woningen		kantoren		voertuigen	
	P50	P95	P50	P95	P50	P95	P50	P95
BDE 28	0,37	1,60	4,21	17,2			2,1	81,7
BDE 47	2,60	20,80	9,39	169,0	690	6015	44	375
BDE 100	0,74	5,10	0,54	33,3	63	921,25	10	77,7
BDE 99	2,70	24,90	2,65	189,0	172,5	3935,55	10	326
BDE 154	0,27	1,90	0,20	10,9	5,05	132,15	2,4	41,1
BDE153	0,38	2,70	0,27	22,8	3,35	104,95	2	53,2
BDE 183								
BDE 197								
BDE 196								
BDE 203								
BDE 209	20,70	115,00	9,50	438,0			104	650
HBCD	37,00		180,0		175			
som BDE 5	8,50	55,4	13,4*	446,4*	1082	11106,65	196,1	1371,3

\*: benaderend wegens sommatie van verwerkte gegevens

**Tabel 25.** Geometrisch gemiddelde en P95 concentraties van PFOS en PFOA in moedermelk (ng/g)

	PFOS	PFOA
P50	2,78	0,27
P95	10,71	0,811

**Tabel 26.** Gemiddelde concentraties PFOS en PFOA in levensmiddelen, zoals gebruikt in de innameschatting (ng/g vers gewicht)

voedingsgroep	PFOS	PFOA
Aardappel	6,18E+00	6,74E-01
fruit	3,47E-01	4,29E-01
groenten	6,02E-01	6,47E-01
bier	1,29E-02	5,77E-03
Boter	2,50E-01	1,23E-01
Ei	6,86E+00	8,63E-01
leidingwater en flessenwater	5,22E-03	2,04E-03
granen en rijst	5,15E-02	5,48E-02
Kaas	2,50E-01	1,23E-01
Koffie en thee	5,22E-03	2,04E-03
Koffiemelk	2,50E-01	1,23E-01
lever	0,00E+00	0,00E+00
Melk	2,50E-01	1,23E-01
Noten, zaden	0,00E+00	0,00E+00
Room	2,50E-01	1,23E-01
Schaaldieren, weekdieren	9,86E+00	3,34E+00
Vet dierlijk ander	0,00E+00	0,00E+00
Vet plantaardig	3,33E-02	9,05E-02
Visproducten	1,20E+01	5,86E-01
Vlees eend	6,33E-01	5,49E-02
Vlees fazant	6,33E-01	5,49E-02
Vlees	5,54E-02	5,20E-01
Vlees kalkoen	6,33E-01	5,49E-02

Vlees gevogelte	6,33E-01	5,49E-02
Vlees varken	1,70E-01	5,54E-02
Vlees varken halfvet	1,70E-01	5,54E-02
Vlees varken mager	1,70E-01	5,54E-02
Vlees varken vet	1,70E-01	5,54E-02
Vlees varken zeer mager	1,70E-01	5,54E-02
Witloof	6,02E-01	6,47E-01
Zeevis	1,20E+01	5,86E-01
Zoetwatervis	1,74E+02	7,82E-01

Voor bodem werd voor PFOS en PFOA de helft van de aantoonbaarheidsgrens uit 3M (2008) gehanteerd, met name 0,005 en 0,0075 ng/kg ds. Er werd geen onderscheid gemaakt tussen hoge en lage waarden.

Voor binnenlucht gebruikten we voor PFOS de maximale waarde van Jahnke *et al.* (2007) (1,6 pg/m<sup>3</sup>), voor PFOA gebruikten we de meetwaarde van Barber *et al.* (2007) (4,4 pg/m<sup>3</sup>). We gebruikten dezelfde waarden voor vervoer. Voor buitenlucht gebruikten we de beschikbare meetgegevens. Dit resulteerde in een P50 van 1,4 pg/m<sup>3</sup> en een P95 van 46 pg/m<sup>3</sup> voor PFOS. Voor PFOA hebben we een P50 van 8,9 pg/m<sup>3</sup> en een P95 van 552 pg/m<sup>3</sup>.

## **6.3 Resultaten**

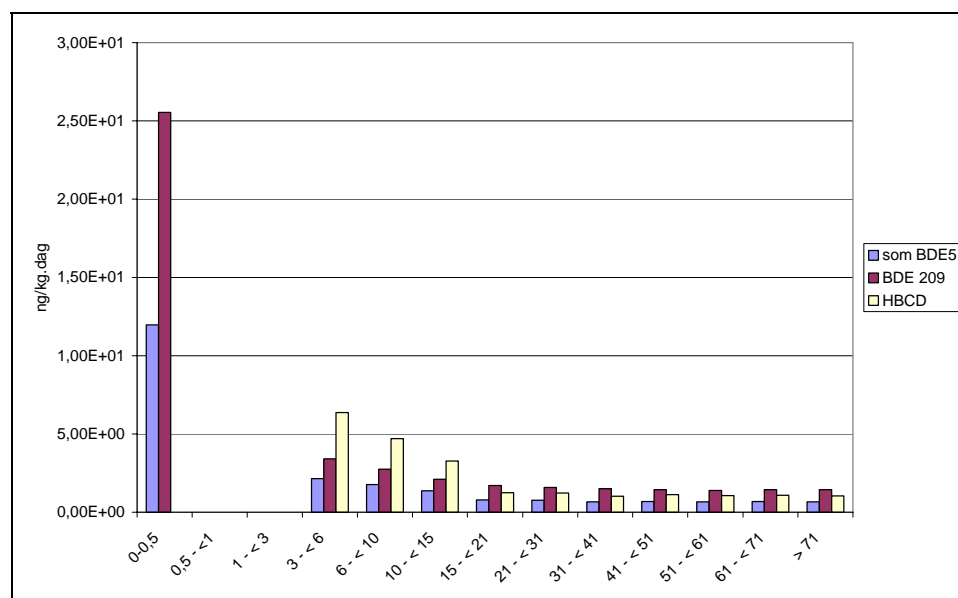
### **6.3.1 Brandvertragers**

De inname van gebromeerde brandvertragers via moedermelk is opgenomen in Tabel 27. Het congenerepatroon wordt gedomineerd door BDE 47 en BDE 153 (indien geen rekening gehouden wordt met BDE 209).

De evolutie van de inname van gebromeerde brandvertragers via voeding met leeftijd is weergegeven in figuur 12. We zien de hoogste inname bij borstgevoede zuigelingen. Verder is er een daling van de inname (uitgedrukt per kg lichaamsgewicht) met leeftijd tot de volwassen leeftijd. Bij voeding (niet moedermelk) domineren de congenere BDE 47 en BDE 99 (indien BDE 209 buiten beschouwing gelaten wordt). De inname voor kinderen en volwassenen (bij volwassenen ook de percentiele inname) is opgenomen in tabel 28.

**Tabel 27.** Inname van gebromeerde brandvertragers via moedermelk (ng/kg.dag)

	BDE 28	BDE 47	BDE 100	BDE 99	BDE 154	BDE 153	BDE 183	BDE 197	BDE 209	HBCD	Som BDE <sub>5</sub>
P50 concentraties											
Gemiddeld	0,361	4,845	0,802	1,421	0,702	4,030	0,094	0,000	25,53	0,000	11,964
P5	0,258	3,464	0,574	1,016	0,502	2,881	0,067	0,000	18,25	0,000	8,552
P50	0,361	4,842	0,802	1,421	0,702	4,028	0,094	0,000	25,52	0,000	11,957
P95	0,459	6,166	1,021	1,809	1,894	5,129	0,120	0,000	32,49	0,000	15,225
Min	0,156	2,099	0,348	0,616	0,304	1,746	0,041	0,000	11,06	0,000	5,183
Max	0,560	7,514	1,244	2,204	1,089	6,249	0,146	0,000	39,59	0,000	18,550
P95 concentraties											
Gemiddeld	0,944	10,310	2,492	2,419	1,620	5,855	0,807	0,841	111,46	15,176	20,696
P5	0,700	7,643	1,847	1,793	1,201	4,340	0,590	0,614	82,62	11,249	15,342
P50	0,948	10,354	2,502	2,430	1,627	5,880	0,806	0,841	111,93	15,240	20,784
P95	1,197	13,064	3,157	3,066	2,053	7,419	1,020	1,062	141,23	19,229	26,24
Min	0,415	4,527	1,094	1,062	0,712	2,571	0,355	0,370	48,95	6,664	9,088
Max	1,487	16,236	3,924	3,810	2,552	9,220	1,225	1,275	175,52	23,898	32,592



**Figuur 12.** Gemiddelde inname van gebromeerde brandvertragers via de voeding en moedermelk in functie van leeftijd (P50 concentraties voor moedermelk, gemiddelde concentraties voor voeding)

De figuren geven betrouwbare verhoudingen voor BDE 47, BDE 100, BDE 99, BDE 154 en BDE 153. Voor de overige BDE's en HBCD waren minder data beschikbaar. Voor BDE 197 en BDE 196 ontbraken data voor bepaalde levensmiddelen. In dat geval werd de concentratie gelijk aan nul gesteld. De bespreking beperkt zich tot de congenere met betrouwbare schattingen. Voor BDE 28, BDE 47 en BDE 100 wordt de inname gedomineerd door vis, schaaldieren en weekdieren (55 tot 62 % bij volwassenen, 50 – 65 % bij kinderen), gevolgd door de inname via vlees. Vlees en vis maken 75 – 95 % uit van de blootstelling voor deze

congeneren. BDE 154 heeft een iets lagere bijdrage via vis, schaaldieren en weekdieren, maar vertoont een gelijkaardig patroon als de lagere congenen BDE 28, BDE 47 en BDE 100. Bij BDE 99 en 153 zien we een belangrijker bijdrage van vlees (ongeveer 35 %), gevolgd door vis, schaaldieren en weekdieren. Bij kinderen zien we vervolgens een belangrijke bijdrage van granen (8 – 15 %, behalve voor BDE 28), gevolgd door vetten. Bij volwassenen daarentegen volgen na vis en vlees in hoofdzaak vetten (10 – 20 %, behalve voor BDE 28) en daarna granen.

De totale inname van gebromeerde brandvertragers in functie van leeftijd is opgenomen in tabel 29 (P50 milieuconcentraties) en tabel 30 (P95 milieuconcentraties).

Voeding is de voornaamste blootstellingsroute voor gebromeerde brandvertragers bij kinderen en volwassenen. Bij kinderen kan blootstelling aan bodem en huisstof een rol spelen. Het belang van deze routes wordt belangrijk bij hogere concentraties. Ook moeten we er rekening mee houden dat hier de cijfers voor kleuters weergegeven worden; voor peuters is de inname van bodem en stof nog hoger en zal deze route dus nog meer aan belang winnen. Bij gemiddelde concentraties is de blootstelling van volwassenen bijna volledig afkomstig van voeding. Bij hogere concentraties in het milieu (niet-voeding) begint inademing een rol te spelen, evenals bij een aantal congenen ook huisstof. In het laatste geval is dit te wijten aan de invloed van kantoorstof bij werkenden. De blootstelling via inademing wordt overschat omwille van de te hoge gebruikte concentraties voor kantoorlucht en bij HBCD ook voor binnenlucht van woningen (dat uit Groot-Brittannië, bij gebrek aan andere gegevens).

US-EPA (US-EPA, 2008a,b,c,d) heeft een toxicologische evaluatie uitgevoerd van de congenen BDE 47, BDE 99, BDE 153 en BDE 209. NRC (2000) leidde een orale RfD af voor HBCD. De afgeleide orale RfD-waarden<sup>1</sup> en hellingsfactor<sup>2</sup> (voor BDE 209) zijn opgenomen in tabel 31.

---

<sup>1</sup> RfD (Reference Dose); schatting van een dagelijkse orale dosis (met een onzekerheid die mogelijks oploopt tot een factor 10), die levenslang door de bevolking (met inbegrip van gevoelige groepen) mag worden ingenomen zonder nadelig effecten. vertaald uit US-EPA-IRIS

<sup>2</sup> hellingsfactor: een bovengrensschatting (benaderend P95) van het toegenomen risico op kanker gedurende levenslange blootstelling; meestal uitgedrukt als proportie (van een populatie) per eenheid van inname (vb: per mg/kg.d) –vertaald uit woordenlijst US-EPA-IRIS

**Tabel 28.** Inname van gebromeerde brandvertragers via voeding door de Vlaamse (Belgische) bevolking (ng/kg.dag)

	BDE 28	BDE 47	BDE 100	BDE 99	BDE 154	BDE 153	BDE 183	BDE 197	BDE 196	BDE 209	HBCD	Som BDE <sub>5</sub>
Kinderen (3 - < 6 jaar)												
gemiddeld	0,082	0,993	0,182	0,424	0,108	0,110	0,124	0,079	0,076	3,417	6,370	2,146
volwassenen (> 15 jaar)												
Gemiddeld	0,029	0,334	0,076	0,202	0,044	0,050	0,055	0,028	0,031	1,520	1,120	0,703
P5	0,012	0,159	0,035	0,100	0,022	0,026	0,029	0,013	0,015	0,768	0,445	0,343
P50	0,026	0,282	0,070	0,188	0,041	0,047	0,052	0,026	0,029	1,439	0,996	0,653
P95	0,056	0,598	0,137	0,350	0,076	0,084	0,089	0,047	0,054	2,548	2,213	1,237

**Tabel 29.** Gemiddelde totale inname van gebromeerde brandvertragers, P50 concentraties (ng/kg.dag)

leeftijd (jaar)	0-0,5	0,5 - <1*	1 - < 3*	3 - < 6	6 - < 10	10 - < 15	15 - < 21	21 - < 31	31 - < 41	41 - < 51	51 - < 61	61 - < 71	> 71
niet-werkenden													
BDE 28	3,63E-01			8,40E-02	6,88E-02	5,29E-02	3,18E-02	3,23E-02	2,75E-02	2,93E-02	2,97E-02	2,95E-02	2,82E-02
BDE 47	4,85E+00			1,01E+00	8,28E-01	6,39E-01	3,44E-01	3,44E-01	2,89E-01	3,09E-01	3,02E-01	3,01E-01	2,89E-01
BDE 100	8,03E-01			1,83E-01	1,71E-01	1,46E-01	8,25E-02	8,42E-02	7,07E-02	7,59E-02	7,48E-02	7,49E-02	7,18E-02
BDE 99	1,42E+00			4,36E-01	3,59E-01	2,77E-01	2,33E-01	2,19E-01	1,96E-01	1,93E-01	1,87E-01	1,92E-01	1,90E-01
BDE 154	7,02E-01			1,09E-01	9,05E-02	7,00E-02	4,91E-02	4,86E-02	4,15E-02	4,36E-02	4,30E-02	4,25E-02	4,13E-02
BDE 153	4,03E+00			1,13E-01	9,34E-02	7,20E-02	5,75E-02	5,47E-02	4,93E-02	4,92E-02	4,71E-02	4,74E-02	4,64E-02
BDE 209	2,55E+01			3,77E+00	2,94E+00	2,15E+00	1,75E+00	1,62E+00	1,53E+00	1,48E+00	1,41E+00	1,48E+00	1,48E+00
HBCD	8,76E-02			6,59E+00	4,83E+00	3,33E+00	1,31E+00	1,28E+00	1,08E+00	1,17E+00	1,11E+00	1,14E+00	1,09E+00
Som BDE5	1,20E+01			2,19E+00	1,79E+00	1,37E+00	7,97E-01	7,85E-01	6,73E-01	7,00E-01	6,80E-01	6,82E-01	6,64E-01
werkenden													
BDE 28	3,63E-01			8,40E-02	6,88E-02	5,29E-02	3,16E-02	3,22E-02	2,73E-02	2,92E-02	2,95E-02	2,94E-02	2,82E-02
BDE 47	4,85E+00			1,01E+00	8,28E-01	6,39E-01	3,80E-01	3,76E-01	3,20E-01	3,39E-01	3,39E-01	3,25E-01	2,89E-01
BDE 100	8,03E-01			1,83E-01	1,71E-01	1,46E-01	8,61E-02	8,74E-02	7,37E-02	7,88E-02	7,83E-02	7,73E-02	7,18E-02
BDE 99	1,42E+00			4,36E-01	3,59E-01	2,77E-01	2,44E-01	2,28E-01	2,05E-01	2,02E-01	1,98E-01	1,99E-01	1,90E-01
BDE 154	7,02E-01			1,09E-01	9,05E-02	7,00E-02	4,95E-02	4,90E-02	4,19E-02	4,40E-02	4,34E-02	4,28E-02	4,13E-02
BDE 153	4,03E+00			1,13E-01	9,34E-02	7,20E-02	5,80E-02	5,52E-02	4,97E-02	4,96E-02	4,76E-02	4,77E-02	4,64E-02
BDE 209	2,55E+01			3,77E+00	2,94E+00	2,15E+00	1,75E+00	1,62E+00	1,54E+00	1,48E+00	1,41E+00	1,48E+00	1,48E+00
HBCD	8,76E-02			6,59E+00	4,83E+00	3,33E+00	1,35E+00	1,32E+00	1,12E+00	1,20E+00	1,15E+00	1,16E+00	1,09E+00
Som BDE5	1,20E+01			2,19E+00	1,79E+00	1,37E+00	8,56E-01	8,37E-01	7,23E-01	7,49E-01	7,39E-01	7,23E-01	6,64E-01

\*: geen totale blootstelling berekend omwille van het ontbreken van cijfers voor inname via de voeding

**Tabel 30.** Gemiddelde totale inname van gebromeerde brandvertragers, P95 concentraties (voeding: gemiddeld) (ng/kg.dag)

leeftijd (jaar)	0-0,5	0,5 - <1*	1 - < 3*	3 - < 6	6 - < 10	10 - < 15	15 - < 21	21 - < 31	31 - < 41	41 - < 51	51 - < 61	61 - < 71	> 71
niet-werkenden													
BDE 28	9,51E-01			9,06E-02	7,40E-02	5,71E-02	3,62E-02	3,60E-02	3,09E-02	3,29E-02	3,32E-02	3,30E-02	3,09E-02
BDE 47	1,04E+01			1,19E+00	9,45E-01	7,13E-01	4,49E-01	4,18E-01	3,61E-01	3,80E-01	3,58E-01	3,54E-01	3,34E-01
BDE 100	2,50E+00			2,23E-01	1,96E-01	1,62E-01	1,03E-01	9,91E-02	8,49E-02	9,02E-02	8,64E-02	8,62E-02	8,15E-02
BDE 99	2,51E+00			6,66E-01	5,06E-01	3,62E-01	3,37E-01	2,96E-01	2,71E-01	2,67E-01	2,50E-01	2,53E-01	2,43E-01
BDE 154	1,62E+00			1,26E-01	1,01E-01	7,67E-02	5,59E-02	5,40E-02	4,67E-02	4,88E-02	4,76E-02	4,71E-02	4,53E-02
BDE 153	5,85E+00			1,76E-01	1,30E-01	8,76E-02	7,42E-02	6,79E-02	6,21E-02	6,20E-02	5,80E-02	5,82E-02	5,63E-02
BDE 209	1,12E+02			9,50E+00	6,20E+00	3,91E+00	2,90E+00	2,66E+00	2,54E+00	2,47E+00	2,36E+00	2,45E+00	2,43E+00
HBCD	1,52E+01			1,08E+01	7,04E+00	3,85E+00	1,70E+00	1,64E+00	1,43E+00	1,52E+00	1,44E+00	1,48E+00	1,45E+00
som BDE5	2,09E+01			2,72E+00	2,13E+00	1,57E+00	1,06E+00	9,75E-01	8,56E-01	8,84E-01	8,32E-01	8,30E-01	7,89E-01
werkenden													
BDE 28	9,51E-01			9,06E-02	7,40E-02	5,71E-02	3,58E-02	3,57E-02	3,07E-02	3,24E-02	3,27E-02	3,26E-02	3,09E-02
BDE 47	1,04E+01			1,19E+00	9,45E-01	7,13E-01	7,58E-01	6,90E-01	6,22E-01	6,37E-01	6,68E-01	5,63E-01	3,34E-01
BDE 100	2,50E+00			2,23E-01	1,96E-01	1,62E-01	1,50E-01	1,41E-01	1,25E-01	1,29E-01	1,34E-01	1,18E-01	8,15E-02
BDE 99	2,51E+00			6,66E-01	5,06E-01	3,62E-01	5,36E-01	4,72E-01	4,39E-01	4,32E-01	4,50E-01	3,86E-01	2,43E-01
BDE 154	1,62E+00			1,26E-01	1,01E-01	7,67E-02	6,51E-02	6,24E-02	5,48E-02	5,68E-02	5,71E-02	5,35E-02	4,53E-02
BDE 153	5,85E+00			1,76E-01	1,30E-01	8,76E-02	9,88E-02	9,14E-02	8,48E-02	8,47E-02	8,47E-02	7,60E-02	5,63E-02
BDE 209	1,12E+02			9,50E+00	6,20E+00	3,91E+00	2,95E+00	2,72E+00	2,60E+00	2,54E+00	2,45E+00	2,48E+00	2,43E+00
HBCD	1,52E+01			1,08E+01	7,04E+00	3,85E+00	1,77E+00	1,70E+00	1,48E+00	1,57E+00	1,51E+00	1,48E+00	1,45E+00
som BDE5	2,09E+01			2,72E+00	2,13E+00	1,57E+00	1,64E+00	1,49E+00	1,35E+00	1,37E+00	1,42E+00	1,23E+00	7,89E-01

\*: geen totale blootstelling berekend omwille van het ontbreken van cijfers voor inname via de voeding

**Tabel 31.** Orale RfD-waarden en hellingsfactoren voor gebromeerde diphenylethers, afgeleid door US-EPA (IRIS-databank)

	RfD	afleiding RfD	hellingsfactor	afleiding hellingsfactor
BDE 47	100 ng/kg.d	Eriksson <i>et al.</i> (2001); muis; BMDL <sub>1SD</sub> * 0,35 mg/kg; UF 3000; neurologische gedragseffecten	-	-
BDE 99	100 ng/kg.d	Viberg <i>et al.</i> (2004); muis; BMDL <sub>1SD</sub> 0,29 mg/kg; UF 3000; neurologische gedragseffecten	-	-
BDE 153	200 ng/kg.d	Viberg <i>et al.</i> (2003); muis; NOAEL 0,45 mg/kg; UF 3000; neurologische gedragseffecten	-	-
BDE 209	7000 ng/kg.d	Viberg <i>et al.</i> (2003); muis; NOAEL 2,22 mg/kg; UF 300; neurologische gedragseffecten	$7 \cdot 10^{-10} \text{ (ng/kg.d)}^{-1}$	NTP (1986); ratten
<b>HBCD</b>	200 ng/kg.d	Zeller en Kirsch (1970); rat; NOAEL 450 mg/kg.d; UF 3000; toegenomen levergewicht en abnormale vetaccumulatie in de lever		

\*: BMDL<sub>1SD</sub>: 95 % ondergrens op de meest waarschijnlijke schatting van de dosis, overeenkomend met een verandering in het gemiddelde gelijk aan een standaarddeviatie van het controlegemiddelde

US-EPA besluit dat de foetus en zuigelingen, omwille van de snel ontwikkelende hersenen, een mogelijk gevoelige groep zijn voor blootstelling aan BDE 47, BDE 99, en BDE 153. Gezien het kritisch eindpunt gelijk is voor de verschillende BDE's moeten we rekening houden met mogelijke additieve effecten (en dit niet alleen voor de BDE's waarvoor een RfD-waarde beschikbaar is). We evalueerden bijgevolg de totale blootstelling voor zuigelingen (moedermelk), kinderen (3 - < 6 jaar) en volwassenen (21 - < 31 jaar). De blootstelling van kinderen tussen 1 en 3 jaar is hoger dan deze van kleuters, maar kon niet gekwantificeerd worden wegens het ontbreken van Vlaamse voedselconsumptiecijfers voor die groep. We voerden een evaluatie per congener uit en evalueerden ook de blootstelling aan de som van alle BDE-congeneren, door de blootstelling te wegen in functie van de RfD. Voor BDE-congeneren, waarvoor geen RfD voorhanden is, maakten we gebruik van de laagste RfD. Het is duidelijk dat dit een eerste benadering is van mogelijke additiviteit en dat data ontbreken voor een meer verfijnde toetsing. Voor HBCD werd de blootstelling apart getoetst aan de RfD. De toetsing gebeurde door de verhouding te berekenen van dosis tot RfD-waarde (RI-waarde, Risico-Index). Voor de blootstelling aan alle congeneren samen werden deze RI-waarden opgeteld. Is de RI-waarde groter dan 1, dan spreken we van een gezondheidsrisico. Voor carcinogene effecten toetsten we normaliter levenslange blootstelling. Conservatief

toetsten we hierbij de blootstelling per leeftijdsgroep. We toetsten door de blootstelling te vermenigvuldigen met de hellingsfactor. Dit levert ons het extra kankerrisico op.

De toetsing van de blootstelling via moedermelk aan de RI-waarden toont aan dat de RI's voor elk congeneer en voor de som van de bepaalde congenen beneden de waarde 1 blijven, zelfs voor de hoogste inname bij P95-concentraties. De marge is evenwel lager dan een factor 10, zodat toch aanbevolen wordt om de blootstelling via moedermelk verder op te volgen. Toetsing van de blootstelling aan BDE 209 via moedermelk aan de hellingsfactor levert een extra kankerrisico op van maximaal  $1^{E-7}$ . Toetsing van de blootstelling van HBCD aan de RfD geeft aan dat er voldoende marge is. Voor kinderen en volwassenen toetsten we alleen de gemiddelde inname bij blootstelling aan gemiddelde levensmiddelenconcentraties en P50 en P95 milieuconcentraties. De hoogste RI-waarde vinden we bij kinderen, ze bedraagt 0,03, wat wil zeggen dat voor gemiddelde blootstelling aan P95-concentraties voor de som van  $\Sigma BDE_5$  en BDE 209 3 % uitmaakt van de RfD. Rekening houdend met de variatie op de inname en de ontbrekende BDE's in de toetsing, blijven we voldoende onder de beschikbare RfD-waarden. Bij toetsing van de blootstelling van BDE 209 aan de hellingsfactor bekwamen we een maximaal extra kankerrisico van  $6^{E-9}$  (kinderen, P95-concentraties), voor volwassenen ligt het extra kankerrisico op  $2^{E-9}$  (P95-concentraties). De blootstelling van kinderen en volwassenen aan HBCD blijft beduidend onder de afgeleide RfD.

Op basis van de beschikbare toxicologische informatie besluiten we dat de blootstelling aan gebromeerde diphenylethers geen gezondheidsrisico oplevert. Wel is de marge voor blootstelling via moedermelk klein bij hoog blootgestelde zuigelingen. Omwille van de onzekerheden op de afleiding van de RfD-waarde en op de interactie tussen brandvertragers en het ontbreken van data voor een aantal BDE's, is opvolging van de concentraties in moedermelk aan te raden.

We vergelijken de schattingen voor voeding met recente schattingen uit de literatuur voor andere Europese landen. Voor afgezet stof is het beter om de gemeten concentraties te vergelijken met data uit de literatuur, de schatting van de hoeveelheid ingenomen stof (en bodem) is immers vrij onzeker en kan in belangrijke mate de innameschatting beïnvloeden. De inname via lucht wordt evenmin vergeleken. We weten immers dat we de blootstelling via kantoorlucht sterk overschatten. De literatuurbedata zijn opgenomen in tabel 32.



**Tabel 32.** Gemiddelde inname van brandvertragers uit voeding in Europese studies

aard blootstelling	waarde (ng/kg,d)	referentie
deze studie - volwassenen	0,77 $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> 1,58 BDE 209 1,22 HBCD	
deze studie – kinderen (3 - < 6 jaar)	2,1 $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> 3,4 BDE 209 6,4 HBCD	
Zweden voeding – market basket – volwassenen*	0,69 $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> 0,38 BDE 47	Darnerud <i>et al.</i> (2009)
Noorwegen - FFQ en concentraties – volwassenen	1,4 $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> 1,52 BDE 209	Knutsen <i>et al.</i> (2008)
Voorspoels – market basket – volwassenen – dierlijke producten*	0,5 $\Sigma$ BDE <sub>7</sub>	Voorspoels <i>et al.</i> (2007)
Vlaanderen – innamestudie – volwassenen – vis	0,85 $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> + BDE 28	Sioen <i>et al.</i> (2008)
Vlaanderen – duplicate diet – volwassenen*	0,2 $\Sigma$ BDE <sub>7</sub> 4,4 BDE 209	Roosens <i>et al.</i> (2009)
Nederland – innamestudie – volwassenen – vis*	0,12 HBCD	van Leeuwen en de Boer (2008)
Nederland – market basket – levenslang	0,79 (mediaan) $\Sigma$ BDE <sub>5</sub> 1,62 (P97,5) $\Sigma$ BDE <sub>5</sub>	Bakker <i>et al.</i> (2008)
Nederland – market basket – levenslang (cfr. studie hierboven) - levenslang	0,98 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (mediaan) 2,19 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (P97,5)	de Winter-Sorkina <i>et al.</i> (2006)
Nederland – market basket – levenslang (cfr. studie hierboven) - volwassenen	0,78 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (mediaan) 1,73 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (P97,5)	de Winter-Sorkina <i>et al.</i> (2006)
Nederland – market basket – levenslang (cfr. studie hierboven) – kinderen	2,54 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (mediaan) 5,63 $\Sigma$ BDE <sub>10</sub> (P97,5)	de Winter-Sorkina <i>et al.</i> (2006)

$\Sigma$ BDE<sub>7</sub>: BDE 28, BDE 47, BDE 100, BDE 99, BDE 154, BDE 153, BDE 183

\*: berekend uit ng/dag met een lichaamsgewicht van 70 kg

Ondanks het feit dat niet alle studies dezelfde som van congenere weergeven, stellen we vast dat de berekende inname in Vlaanderen vergelijkbaar is met de inname in het buitenland, met uitzondering van Noorwegen. Voor BDE 209 kon vergeleken worden met de Noorse studie en de schatting van Roosens *et al.* (2009). We kwamen beduidend lager uit dan deze laatste schatting en vergelijkbaar met de Noorse schatting. Voor HBCD kon alleen vergeleken worden met Nederland, waarbij we ongeveer een factor 10 hoger uitkwamen. Dit verschil kan deels verklaard worden door de hogere concentraties in vis in onze schattingen. Ook beperkten Van Leeuwen *et al.* (2008) zich tot de inname via vis.

### 6.3.2 Perfluorverbindingen

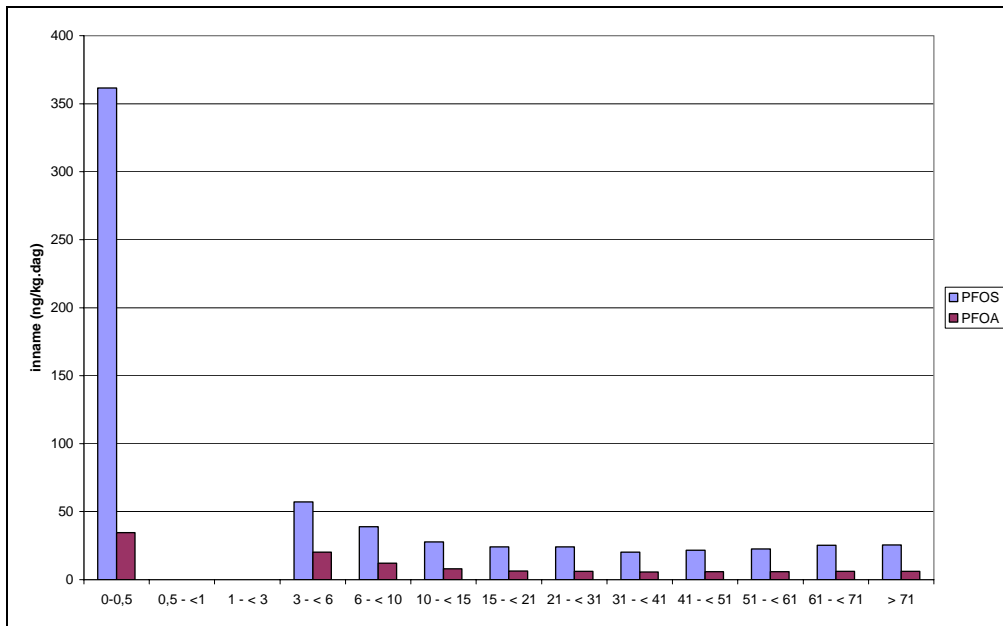
De inname van PFOS en PFOA via moedermelk is opgenomen in tabel 33. voor zowel P50 als gemiddelde als P95 concentraties.

**Tabel 33.** Inname van PFOS en PFOA via moedermelk (ng/kg.dag)

	PFOS	PFOA
P50 concentraties		
gemiddeld	361,6	34,5
P5	264,7	25,2
P50	361,3	34,4
P95	461,4	44,0
min	168,4	16,1
max	545,1	52,0
P95 concentraties		
gemiddeld	1386	105
P5	991	75,1
P50	1384	105
P95	1755	133
min	559	42,4
max	2227	169

De inname van PFOS ligt hoger dan deze van PFOA. Ook zien we dat de P95 inname voor PFOS verhoudingsgewijs hoger ligt dan de P95 inname voor PFOA (factor 6 ten opzichte van factor 3).

De evolutie van de gemiddelde inname van PFOS en PFOA in voeding met leeftijd (inclusief borstvoeding) is weergegeven in figuur 13.



**Figuur 13.** Gemiddelde inname van PFOS en PFOA via de voeding (inclusief borstvoeding) in functie van leeftijd

We zien ook bij de perfluorverbindingen de hoge inname via moedermelk in vergelijking met de inname via voeding bij kinderen en volwassenen.

De berekende gemiddelde inname voor kinderen (3 - < 6 jaar) en de gemiddelde en percentiele lange termijn inname voor volwassenen zijn opgenomen in tabel 34.

**Tabel 34.** Inname van PFOS en PFOA via voeding door de Vlaamse (Belgische) bevolking (ng/kg.dag)

	PFOS	PFOA
Kinderen		
Gemiddeld	57,1	20,1
Volwassenen		
Gemiddeld	24,15	6,13
P5	12,18	3,27
P50	22,76	5,94
P95	40,88	9,64

We zien verschillen in de patronen voor kinderen en volwassenen en voor PFOS en PFOA. Bij kinderen wordt de inname van PFOS gedomineerd door aardappelen (48 %), gevolgd door in vergelijkbare fracties vis en visserijproducten, zuivelproducten, ei en fruit (telkens zo'n 10 %). Voor PFOA domineren fruit (30%) en groenten (20%), gevolgd door zuivel en aardappelen (telkens ongeveer 15 %).

Bij volwassenen wordt de inname van PFOS gedomineerd door vis en visserijproducten, terwijl voor PFOA de inname vrij gelijk verdeeld is over vis en visserijproducten, aardappelen, fruit en groenten. Voor PFOS spelen aardappelen ook een belangrijke rol.

De schatting van de inname is gevoelig aan de variatie op de concentraties en aan de bepalingsgrenzen. Een schatting, waarbij de gevolgde middle-bound benadering (concentratie lager dan bepalingsgrens = helft van de bepalingsgrens) vervangen werd door een lower-bound benadering (concentratie lager dan bepalingsgrens = 0) leidde tot een 15 – 20 % lagere schatting. Er was weinig impact op de schatting via aardappelen en groenten, omdat de gemiddelde concentratie omhoog getrokken wordt door de enkele zeer hoge metingen.

De totale inname wordt volledig gedomineerd door de inname via voeding. De inname via het milieu is in de huidige simulatie niet belangrijk.

De door EFSA (2008) afgeleide orale TDI-waarden bedragen 150 ng/kg.dag voor PFOS en 1500 ng/kg.dag voor PFOA. Voor PFOS is de TDI afgeleid van een subchronische studie in apen, waarbij wijzigingen in vetten en thyroidhormonen werden vastgesteld. Voor PFOA is de TDI gebaseerd op een subchronische studie in mannelijke apen, waarbij hypertrofie van de levercellen en toegenomen levergewicht werd vastgesteld. We hebben geen criteria voor eventuele gevoelige subpopulaties zoals zuigelingen of vrouwen in de vruchtbare leeftijd. We toetsten daarom de blootstelling voor zuigelingen (moedermelk), kinderen 3 - < 6 jaar en

volwassenen (via voeding). De inname via voeding bij kinderen tussen 1 en 3 jaar kon niet berekend worden, maar ligt iets hoger dan bij kleuters.

**Tabel 35.** Toetsing van de blootstelling aan BDE aan RfD-waarden (RI-waarden)

	PFOS	PFOA
orale TDI	150	1500
<b>moedermelk</b>		
<i>P50 concentraties</i>		
gemiddelde inname	2,41	0,02
P95 inname	3,08	0,03
<i>P95 concentraties</i>		
gemiddelde inname	9,24	0,07
P95 inname	11,7	0,09
<b>voeding</b>		
<i>gemiddelde inname</i>		
kind (3 - < 6 jaar)	0,38	0,01
volwassene	0,16	0,004
<i>P95 inname</i>		
kind (3 - < 6 jaar)*	0,64	0,02
volwassene	0,27	0,006

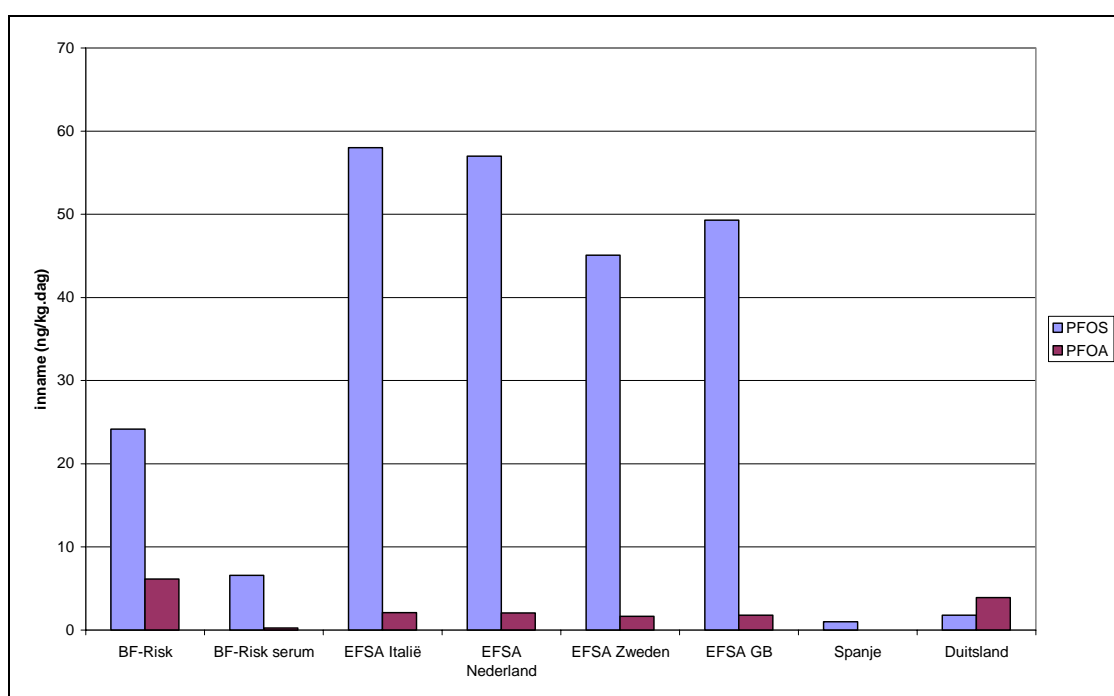
\*: benaderd uit de aanname dat P95/gemiddelde constant is voor kinderen en volwassenen

Voor PFOS overschrijdt de inname via moedermelk de beschikbare TDI-waarde ettelijke malen (2 – 12, afhankelijk van concentratie en moedermelkinname). We kunnen de impact van dergelijke overschrijding momenteel niet inschatten, aangezien er geen TDI-waarde voor zuigelingen beschikbaar is. Bij kinderen en volwassenen blijft de inname onder de TDI voor PFOS, ook voor P95-schattingen. De marge is, vooral voor kinderen beperkt en we kunnen niet uitsluiten dat jongere kinderen bij de hogere percentielen een overschrijding van de TDI vertonen voor PFOS. Voor PFOA blijft de inname beduidend onder de TDI-waarde.

De concentraties in moedermelk lagen boven de bepalingsgrens. Ondanks de hoge inname raden we het gebruik van moedermelk niet af. Immers, ondanks de aanwezigheid van vervuilende stoffen, heeft moedermelk een gunstig effect op de gezondheid van een baby. Volgens de Wereldgezondheidsorganisatie (WGO) is moedermelk nog steeds de beste voeding voor een baby. De samenstelling is gedurende de volledige borstvoedingsperiode en bij elke voeding afgestemd op de behoefte, de groei, het afweersysteem en de omgeving van de baby. Borstvoeding vermindert het risico op infecties en allergieën bij de baby. Ook het risico op bepaalde aandoeningen zoals diabetes of zwaarlijvigheid op latere leeftijd verkleint. Het geven van borstvoeding schept een bijzondere band tussen moeder en kind. Daarnaast zijn er ook voor de moeder heel wat gezondheidsvoordelen (zoals een snellere terugkeer naar het gewicht van voor de zwangerschap, verminderd risico op borstkanker, eierstokkanker en osteoporose). Wel bevelen we een verdere opvolging aan van de gehalten in moedermelk.

Voor PFOS is er een noodzaak om tot een accuratere schatting van de blootstelling via voeding te komen door bijkomende gegevens te verzamelen en gevoeliger meettechnieken te ontwikkelen. Eveneens zijn de toxicologische criteria nog onvoldoende onderbouwd om de effecten op gevoelige subpopulaties in te schatten. Er ontbreken eveneens adequate concentratiegegevens en toxiciteitsgegevens om voor perfluorverbindingen, anders dan PFOS en PFOA een inschatting van de blootstelling uit te voeren.

Een vergelijking van de inname via voeding met recente Europese schattingen is opgenomen in figuur 15.



**Figuur 14.** Vergelijking van de berekende inname van PFOS en PFOA via voeding met recente Europese schattingen. (BFRISK: innameschatting; BFRISK serum: terugrekening van inname vanuit gemeten serumconcentraties via ééncompartimenteel farmacokinetisch model)

Bij de vergelijking met de literatuur valt het grote verschil op tussen de verschillende schattingen voor PFOS. De BFRISK schattingen liggen in dezelfde grootteorde als deze van EFSA, maar zijn wel een factor 2 lager. Daartegenover staat dat de schattingen voor Spanje en Duitsland een factor 15 tot 25 lager liggen. Voor PFOA liggen de verschillende schattingen meer in elkaars lijn. De BFRISK schatting ligt ongeveer 3 maal hoger dan deze van EFSA en is iets hoger dan deze van Duitsland.

## ***7. Leemten in de kennis***

In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de leemtes in de kennis en aanbevelingen naar het beleid m.b.t. analyse, toxiciteit, biomerker metingen en risico-evaluatie van gebromeerde vlamvertragers en perfluorverbindingen.

In de eerste plaats wordt voor de twee groepen van componenten de onzekerheid aangegeven in verband met bemonstering, de homogenisatie van de verschillende matrices, extractieprocedures en problemen en onzekerheden wat de analyse betreft.

Verder wordt een overzicht gegeven van leemtes in de kennis met betrekking tot toxiciteit van de twee groepen componenten, zowel *in vivo* als *in vitro* en worden voorstellen voor biomerkers van blootstelling en biomerkers van effect geformuleerd.

Tenslotte wordt aangegeven welke leemtes nog bestaan in de kennis en de data (blootstellingsroutes) om een betrouwbare risico inschatting voor humane blootstelling op te stellen.

### **7.1 Bemonstering**

Gezien de grote variatie in gehalten, zowel voor de gebromeerde vlamvertragers als voor de perfluorverbindingen in bepaalde matrices is het essentieel om een betrouwbare, representatieve bemonsteringsstrategie te ontwikkelen voor de verschillende soorten stalen.

Onderzoek is nodig naar het aantal voedingsstalen van bijvoorbeeld één teler dat representatief is voor de gehalten aan BFRs en PFCs in een voedselitem bij die teler. Uiteraard zal de bemonsteringsstrategie afhankelijk zijn van de vraagstelling. De bemonstering zal verschillend zijn wanneer men regio's wil vergelijken dan wanneer men de dagelijkse inname van de gemiddelde Vlaming wil inschatten via bijvoorbeeld voedsel.

Wil men de inname via voeding inschatten, dan is er nood aan gegevens voor de levensmiddelen zoals verkocht in het commerciële circuit en eventueel bijkomend van lokale producenten indien rechtstreekse levering aan gebruikers mogelijk is (vb: biologische groentenpakketten).

Voor de bemonstering van huis- en kantoorstof moet een gestandaardiseerde procedure (bvb. zeven voor dezelfde partikelgrootte) ontwikkeld worden om een betrouwbaar beeld te krijgen van de gehalten in stof in een bepaalde woning of kantoor. Er dient bijvoorbeeld te worden nagegaan hoe er bemonsterd moet worden in functie van de oppervlakte aanwezig tapijt en/of gordijnen.

Indien in bijkomend onderzoek ook lucht (binnenlucht, voertuigen, buitenlucht) zou bemonsterd worden, is het noodzakelijk zowel de gasfase als de deeltjesfase te bemonsteren. Vanaf BDE 47 komt immers een significant deel van de componenten voor op de deeltjesfase. Zowel gasfase als deeltjesfase dragen bij tot de blootstelling.

## **7.2 Extractie en analyse**

### **7.1.1 Gebromeerde vlamvertragers**

Wat de BFRs betreft staat de extractie en analyse voor de belangrijkste matrices (serum, melk, voeding en stof) vrijwel op punt. Uit verschillende internationale ringtesten is gebleken dat de analyses goed reproduceerbaar zijn. Meer aandacht echter zou nog besteed moeten worden aan het voorbereiden van grotere hoeveelheid staal om de bepalingsgrens te verlagen.

Voor een aantal componenten (BDE 209 en HBCD) moeten de gehalten in de blankostalen duidelijk omlaag en moet de reproduceerbaarheid van de blankowaarden verbeterd worden. Dit is een heel belangrijk aspect voor de analyse van stalen met zeer lage concentraties. Waarden onder de LOQ moeten op een verantwoorde wijze behandeld en verwerkt worden, voornamelijk als de detectiefrequentie laag is.

Tenslotte moeten de halfwaardetijden van BFRs, zowel in de mens als in het milieu, beter gedefinieerd worden

### **7.1.2 Perfluorverbindingen**

De kwaliteit van de analyse van PFCs is vanaf het begin van detectie ervan in het milieu een punt van aandacht geweest. Problemen in de identificering en kwantificering zijn uitvoerig gedocumenteerd (zie bv. Martin *et al.*, 2004; Van Leeuwen *et al.* 2009) en hebben te maken met de beschikbaarheid en zuiverheid van analytische standaarden, contaminatie vanuit fluorpolymeerbevallende laboratoriummaterialen en leidingen in apparatuur, en het feit dat bij diverse toepassingen van PFCs niet zozeer zuivere stoffen, maar mengsels van isomeren zijn gebruikt als gevolg van het gebruikte productieproces voor de synthese van de PFCs.

In interlaboratorium trials waarin de prestaties van laboratoria werden vergeleken is duidelijk terug te zien dat de analyse van PFCs nog verdere verbetering behoeft. In de eerste internationale interlaboratoriumstudie voor PFCs bedroeg de variatiecoëfficiënt in de resultaten tussen laboratoria 95% voor PFOS in water en 125% voor PFOS in vis (Van Leeuwen *et al.*, 2006). In zeewater is de tussen-laboratoriumspreiding gerapporteerd door Yamashita *et al.* (2007). Deze bedroeg 23–32% voor PFOS en 27–30% voor PFOA. In de meest recente internationale interlaboratoriumstudie (Van Leeuwen *et al.*, 2009) werden de

volgende resultaten gerapporteerd voor spreiding tussen laboratoria: in water: PFBA 16 CV%, PFHxA 50%, PFOA 30%, PFNA 37%, PFDA 38%, PFBS 66%, PFHxS 38%, PFOS 29%. Voor vis bedroeg de spreiding respectievelijk: PFOA 23%, PFNA 26%, PFDA 22%, PFOS 29% (overige analieten niet gerapporteerd).

Voor een aantal matrices, voornamelijk groenten en fruit, was de variatie in de gehalten, gemeten in de miniringtest in de huidige studie hoog tot zeer hoog. Mogelijke oorzaken zijn problemen bij de homogenisatie van de stalen en/of bij de gevolgde extractieprocedures. Gecertificeerd referentiemateriaal is niet voorhanden, wat de validatie bemoeilijkt. Ook bestaan voor de meeste matrices geen internationale ringtesten. Literatuur die gehalten rapporteren in voedsel en in stof zijn zeer schaars. Meer onderzoek is nodig naar het effect van verschillende homogenisatietechnieken, het extraheren van grotere hoeveelheden materiaal per analyse en verschillende opzuiveringstechnieken.

Uit de studie van Van Leeuwen (2009) blijkt dat door met name gebruikmaking van <sup>13</sup>C-standaarden een aanzienlijke verbetering in prestaties is bereikt, en dat een spreidingsniveau tussen laboratoria van 20-40% thans de state-of-art voor PFC-analyses in water en vis is. In dit licht dienen de huidige analyseresultaten van het BFRISK project gezien te worden. Aangezien in het onderhavige project een aantal matrices is onderzocht (groenten, fruit, vlees eieren, melk, stof, dranken) waarvoor nog geen interlaboratoriumstudies bestaan is het redelijk te veronderstellen dat de spreiding in de resultaten hierbij van hetzelfde niveau of zelfs nog iets hoger, dus rond de 30-50% zal liggen, temeer daar de concentraties in diverse van deze matrices (vooral groenten en fruit) zeer laag zijn. De gerapporteerde spreiding in meetuitkomsten voor PFCs binnen één laboratorium is door Van Leeuwen *et al.* (2009) gerapporteerd voor water en vis en bedroeg respectievelijk 12 en 7 CV%.

Het voorkomen van isomeren in toepassingen van PFCs is een andere mogelijke bron van variatie bij vergelijking van laboratoriumresultaten. Meestal worden deze gekwantificeerd door alle isomeren, die vaak dicht bij elkaar elueren in een chromatografische analyse, gezamenlijk als één piek te integreren en te vergelijken met de lineaire standaard. In de huidige studie is in onderling overleg tussen UvA en UA besloten een gezamenlijk protocol aan te houden waarbij voor die PFCs waarvoor de aanwezigheid van isomeren is geconstateerd, alleen de lineaire component is geïntegreerd en gerapporteerd. Wanneer echter de chromatografische scheiding niet in staat is een vertakte component volledig te scheiden van de lineaire kan op deze manier een overschatting van het gehalte van de lineaire component, en daarmee een spreiding in de meetuitkomsten ontstaan. Meer onderzoek is



nodig naar de betekenis van deze isomeren en naar de manier waarop de gehalten berekend moeten worden indien deze isomeren aanwezig zijn.

Deelname aan internationaal georganiseerde ringstudies voor de analyse in verschillende matrices is essentieel om tot een standaardprocedure te komen die vergelijking van de meetresultaten van verschillende laboratoria toelaat.

### **7.3 Toxiciteit van BFRs en PFCs**

#### **7.3.1 Leemtes in de toxicologische en epidemiologische kennis**

Het onderzoek naar het voorkomen en de geassocieerde gezondheidseffecten van zowel PFCs als BFRs is nog in volle ontwikkeling, met bijna wekelijks nieuwe publicaties in de literatuur. Het is dan ook van groot belang dat de stand van zaken omtrent de beschikbare toxicologische, epidemiologische en blootstellingskarakterisatie van deze componenten met terugkomende regelmaat wordt opgevolgd.

Hoewel verschillende van de besproken stoffen in bovenstaand rapport uitgefaseerd worden en in de toekomst niet meer geproduceerd zullen worden, blijven ze vaak nog jarenlang aanwezig in ons milieu, en blijft waakzaamheid naar hun verspreiding dan ook geboden. Daarenboven tonen verschillende onderzoeken nu reeds aan dat ook voor de producten die ter vervanging van o.a. PFOS en PBDE's op de markt gebracht werden, reeds schadelijke gezondheidseffecten konden aangetoond worden.

Er zijn dan ook een aantal vaststellingen omtrent het gedrag en de kennis-hiaten die verdere opvolging van de besproken (en geassocieerde) stoffen rechtvaardigen met als doel de bestaande leemtes in de kennis op te vullen:

- Voor PFCs is duidelijk aangetoond dat vooral het verband tussen de concentraties aan PFOS en PFOA in serum van moeders en de effecten op geboortegewicht, ponderal index en hoofdomtrek aandacht verdienen. Hoewel onder andere Olsen *et al* (2009) reeds geduid hebben op de tekortkomingen van de verschillende epidemiologische studies, kan hieraan toch niet voorbij gegaan worden. Verschillende publicaties uit zowel de VS, Europa als Japan hebben aangetoond dat PFCs de ontwikkeling *in utero* kunnen beïnvloeden, met o.a. significante effecten op geboortegewicht en andere parameters tot gevolg. Verdere opvolging van deze bevindingen is dan ook essentieel evenals onderzoek hieromtrent in Vlaanderen;
- Onderzoek heeft uitgewezen dat vooral *in utero* blootstelling aan BFRs en blootstelling via de moedermelk een belangrijke impact kan hebben op de opgenomen dosis van deze

stoffen waaraan baby's en zuigelingen werden blootgesteld. Het consequent opvolgen van de concentraties van PBDE's, HBCD en TBBPA in navelstrengbloed en moedermelk is dan ook essentieel als bewakingssysteem om een optimale bescherming van deze extreem gevoelige sub-populatie te garanderen;

- Naast metingen van PFCs en BFRs in navelstrengbloed en moedermelk is er ook nood aan humane monitoring van deze componenten in adolescenten en volwassenen. Op deze manier kunnen time-trends en achtergrondwaarden (referentiewaarden) voor de bevolking bepaald worden. Als de referentiewaarden voor de (Vlaamse) bevolking in kaart worden gebracht laat dit ook toe om probleemsituaties (hot spots) te definiëren.
- Over het algemeen blijkt Deca-BDE minder toxisch te zijn dan andere PBDE's. Uit verschillende studies blijkt echter dat Deca-BDE onder specifieke milieu-omstandigheden kan omgezet worden naar o.a. veel toxischere Penta- of Octa-BDE's. De fysisch-chemische karakteristieken van PBDE's in het milieu verdienen dan ook bijkomende aandacht.
- Weinig informatie is beschikbaar omtrent huidige en toekomstige belasting van verschillende milieucompartimenten (sedimenten, bodem, grondwater,...) en wat de impact hiervan is op de voedselketen en de opname door de mens. Een vergelijkbare vraagstelling is van toepassing op verschillende van de meer recent ontwikkelde PFCs, waarbij aangetoond is dat o.a. 8:2 fluorotelomeer alcohol door ratten wordt omgezet tot PFOA, en N-ethyl-N-(-2-hydroxyethyl) perfluorooctanesulfonamide door natuurlijke biodegradatie omgevormd worden tot PFOA of PFOS.
- Zowel voor PFCs als voor BFRs blijkt er nog steeds nood te zijn aan relevante toxicologische informatie. Vooral voor de meer recente PFCs bestaan er momenteel nog grote gaten in de kennis omtrent de werkingsmechanismen, de toxico- en farmacokinetische karakteristieken en het lange-termijngedrag in het milieu. Vergelijkende studies zouden een antwoord kunnen geven over de relatieve toxiciteit van de recente verbindingen t.o.v de 'oudere' stoffen zoals PFOS.
- Voor BFRs zijn er orale toetsingscriteria voor BDE 47, BDE 99, BDE 153, BDE 209 en HBCD. Tevens blijken de foetus en zuigelingen gevoelige subgroepen te zijn. Er ontbreekt evenwel informatie voor de overige congenen. Ook weten we nog weinig over de interactie bij gelijktijdige blootstelling aan verschillende congenen.
- Voor PFCs hebben we alleen humaan toxicologische criteria voor PFOS, PFOA (en PFHS). Er ontbreekt informatie met betrekking tot gevoelige groepen en interactie tussen

de PFCs. De conclusies met betrekking tot gezondheidsrisico's zijn daarom alleen voorlopig.

- Verder onderzoek naar toxiciteit van mengsels (zowel van BFRs, PFCs als van beiden) is noodzakelijk.

### 7.3.2 Biomerkers voor humane biomonitoring

In het Steunpunt Milieu en Gezondheid 2007-2012 zijn een aantal biomarkers opgenomen die een (gedeeltelijk) invulling kunnen geven aan de hoger geïdentificeerde leemtes in de kennis. Meer concreet zijn in het huidige Steunpunt volgende biomarkers van blootstelling en effect opgenomen:

- PFCs worden gemeten in navelstrengbloed en bloed van volwassenen van 20-40 jaar oud (respectievelijk 250 en 200 stalen verspreid over Vlaanderen);
- Gebromeerde persistente pollutanten worden gemeten in navelstrengbloed en perifere bloed van 14-15 jaar oude adolescenten (respectievelijk 250 en 200 stalen verspreid over Vlaanderen);
- Voor de pasgeborene zijn effectmarkers opgenomen die groei en ontwikkeling meten (zwangerschapsduur, lengte, gewicht, schedelomtrek, schildklierhormonen, metabole hormonen, sex hormonen) en is er een neurologische opvolging tot 2 jaar (a.d.h.v. vragenlijsten);
- Voor de moeders wordt de nood voor vruchtbaarheidsbehandeling, tijd tot zwangerschap en miskraam bevraagd a.d.h.v. vragenlijsten;
- Bij de adolescenten wordt onder andere informatie verzameld over groei (lengte, gewicht, schildklierhormonen), sexuele ontwikkeling (hormoonspiegels, puberteitsstadia) en neurologie (score voor ADHD en NES-testen);
- Voor de volwassenen tenslotte wordt informatie verzameld met betrekking tot vruchtbaarheidsbehandeling, zwangerschap, miskraam en inhibine B bij mannen;
- Tenslotte zal ook een biobank opgesteld worden met:
  - navelstrengbloed, perifere bloed en haar van de moeders (pasgeborenen);
  - bloed, urine en haar van de adolescenten;
  - bloed en urine van volwassen deelnemers.

Uit bovenstaande oplijsting blijkt vooral dat er een gebrek is aan het gebruik van moedermelk als matrix voor het opvolgen van blootstelling van pasgeborenen en zuigelingen aan zowel PFCs als BFRs via deze essentiële blootstellingsroute.

Omdat de lever een targetorgaan is voor de perfluorverbindingen kunnen de meting van leverenzymen en het vetzuurmetabolisme in perifere bloed van adolescenten ook als potentiële effectmerkers onderzocht kunnen worden.

### 7.3.3 Aanvullende mechanistische *in vitro* studies

De aanvullende mechanistische *in vitro* studies hebben duidelijk een eerste indicatie gegeven van het potentieel oestrogeen en stress-inducerende karakter van deze BFRs en PFCs en dit zowel als enkelvoudige stof of voorkomend in mengsels. Bovendien werd in de uitgebreide literatuurstudie duidelijk dat voor beide stofgroepen een grote verscheidenheid aan toxicologische werkingsmechanismen reeds werd waargenomen. Voor geen enkele stof afzonderlijk, echter, kan een volledig toxiciteitsprofiel worden opgesteld. Vooral voor de minder bekende stoffen, zoals PFBS, is slechts gebrekkige informatie beschikbaar. Naast de klassieke *in vitro* toxiciteitstesten, zoals voor mutageniteit (Ames), oestrogeniteit (ER-interactie), ... kunnen 'omics' technieken, zoals transcriptomics, belangrijke informatie geven over specifieke cellulaire en moleculaire targets voor deze stoffen en hun werkingsmechanismen. Naast verdere karakterisatie van enkelvoudige stoffen, is het gezien het mogelijk potentiërend karakter van de mengsels, aangewezen deze effecten meer in detail te bestuderen in verscheidene, elkaar aanvullende testsystemen. Uit de toxiciteitstesten, alsook uit de literatuurstudie, is gebleken dat in het kader van endocriene verstoring, een complementaire studie naar de oestrogeniteit, de interactie met het aromatase-enzyme (omzetting testosteron naar estradiol), en in het bijzonder voor gebromeerde vlamvertragers, de effecten op schildklierhormoon aangewezen is.

### **7.4 Humane blootstelling aan gebromeerde vlamvertragers en perfluorverbindingen**

Met betrekking tot de *inschatting van de blootstelling* ontbreken gegevens voor zowel BFRs als voor PFCs voor de compartimenten bodem en lucht in Vlaanderen. We hebben evenmin kunnen rekening houden met de invloed van bereiding en verpakking op de gehalten in geconsumeerde levensmiddelen. Tevens zijn de gebruikte concentraties niet gebaseerd op wat op de Vlaamse markt aanwezig is, maar wel op primaire producten van Vlaamse oorsprong en gegevens uit het buitenland (primaire en markt). We hebben in de blootstellingschatting geen rekening gehouden met opname doorheen de huid via bodem/stof en via water. We verwachten dat de dermale opname via bodem of stof slechts een geringe bijdrage zal leveren. De mogelijke bijdrage via dermale absorptie vanuit water (PFCs) kan niet geëvalueerd

worden. Een verfijning van de blootstellingsschattingen op deze vlakken is daarom nog noodzakelijk.

Het bemonsteren van micro-omgevingen zoals kantoren, auto's en dergelijke is nodig om bronnen van BFR-blootstelling te identificeren.

Voor BFRs stellen we vast dat betrouwbare schattingen slechts mogelijk zijn voor BDE 28, BDE 47, BDE 100, BDE 99, BDE 154 en BDE 153. Voor de overige congenen en HBCD ontbreken gegevens of zijn de gegevens beperkt. De sporadisch hoge waarden van decaBDE in stalen moet beter begrepen worden (bereiding, verpakking,...).

Voor PFCs zorgt de grote variatie op de gerapporteerde concentraties (vb: groenten, aardappelen) voor onzekerheid in de risico inschatting. Tevens beïnvloeden de soms vrij hoge bepalingslimieten de schattingen beduidend. Ook ontbreken adequate gegevens voor andere PFCs dan PFOS en PFOA (zowel als gevolg van hoge bepalingslimieten als wegens het ontbreken van data in de literatuur).

De blootstelling via voeding kon niet berekend worden voor kinderen in de leeftijd  $0,5 - \leq 3$  jaar wegens het ontbreken van Vlaamse / Belgische consumptiecijfers.

Voor brandvertragers is niet geweten hoe we de blootstelling via de verschillende routes moeten combineren omdat informatie over de relatieve beschikbaarheid voor absorptie via inademing en orale inname ontbreekt. Voor zowel BFRs als PFCs ontbreekt informatie over de relatieve beschikbaarheid van de verbindingen in bodem/stof versus voeding.

Op basis van de inschatting van de gezondheidsrisico's bevelen we aan de gehalten van zowel BFRs als PFCs in moedermelk te blijven opvolgen. Voor BFRs blijven we onder de toxicologische criteria, voor PFCs overschrijden we het criterium voor PFOS. Ondanks de hoge inname raden we het gebruik van moedermelk niet af. Blootstelling via moedermelk alleen is minder belangrijk bij het voorkomen van effecten, ook al kan dit tot dezelfde PFOS-concentraties in serum leiden als bij *in utero* blootstelling (Wolf *et al.*, 2007). Bovendien heeft moedermelk, ondanks de aanwezigheid van vervuilende stoffen, een gunstig effect op de gezondheid van een baby. Volgens de Wereldgezondheidsorganisatie (WGO) is moedermelk nog steeds de beste voeding voor een baby. De samenstelling is gedurende de volledige borstvoedingsperiode en bij elke voeding afgestemd op de behoefte, de groei, het afweersysteem en de omgeving van de baby. Borstvoeding vermindert het risico op infecties en allergieën bij de baby. Ook het risico op bepaalde aandoeningen zoals diabetes of zwaarlijvigheid op latere leeftijd verkleint. Het geven van borstvoeding schept een bijzondere band tussen moeder en kind. Daarnaast zijn er ook voor de moeder heel wat gezondheidsvoordelen (zoals een snellere terugkeer naar het gewicht van voor de

zwangerschap, verminderd risico op borstkanker, eierstokkanker en osteoporose). Voor PFCs raden we ook aan dat een accuratere blootstellingsschatting via voeding bekomen wordt. Voor PFOS is de marge met de toelaatbare inname immers klein en kunnen we momenteel niet uitsluiten dat hoog blootgestelde peuters deze waarde overschrijden via inname door voeding.

Resultaten uit de biomonitoring (in casu serummetingen) kunnen gekoppeld worden aan externe blootstellingsberekeningen via farmacokinetische modellen. Het voordeel van dergelijke oefening is dat de serummetingen kunnen geïnterpreteerd worden naar bronnen van blootstelling, duidelijker oorzakelijke verbanden kunnen aangetoond worden dan via een (complementaire) statistische analyse, en zowel rekening kan gehouden worden met blootstelling in het verleden als toekomstige evoluties kunnen ingeschat worden. Hoewel voor PFCs in het project een eenvoudig ééncompartimentenmodel uitgetest werd, is nog aanvullend onderzoek nodig alvorens dergelijke modellering kan plaatsvinden. Voor zowel perfluorverbindingen als gebromeerde brandvertragers ontbreken voor mensen gevalideerde farmacokinetische modellen. Voor brandvertragers kan men mogelijk terugvallen op modellen voor accumulerende stoffen zoals dioxines mits aanpassing van een aantal parameterwaarden (waaronder halfwaardetijd). Voor perfluorverbindingen moet in eerste instantie het gebruikte model verder geëvalueerd worden. Minstens voor brandvertragers dient men, omwille van hun vetaccumulerende eigenschappen, rekening te houden met de historiek van blootstelling.

Indien binnenhuisnormen voor bodem en stof gewenst zijn, kunnen deze afgeleid worden op basis van het aandeel dat de blootstelling aan stof en lucht inneemt in de totale blootstelling. Hierbij wordt de toelaatbare inname verdeeld over de blootstellingswegen overeenkomstig deze aandelen. Gezien de variatie en de onzekerheid op de gegevens en schattingen, zullen een aantal scenario's moeten doorgerekend worden en zullen aannames moeten gedaan worden.



## 8. Referenties

- 3M. 2003. Environmental and health assessment of perfluorooctane sulfonate acid and its salts. 3M Company, St. Paul, Minnesota. USA.
- 3M. 2008. Data assessment report - 3M Decatur, Alabama facility PFOA site-related environmental monitoring program.
- Abdallah MAE, Ibarra C, Neels H, Harrad S, Covaci A. 2008. Comparative evaluation of liquid chromatography–mass spectrometry versus gas chromatography–mass spectrometry for the determination of hexabromocyclododecanes and their degradation products in indoor dust. *Journal of Chromatography A*, 1190: 333–341.
- Aubrecht J, Narla RK, Ghosh P, Stanek J, Uckun FM. 1999. Molecular genotoxicity profiles of apoptosis-inducing vanadocene complexes. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 154: 228-235.
- Bakker MI, de Winter-Sorkina R, de Mul A, Boon PE, Van Donkersgoed G, Van Klaveren JD, Baumann BA, Hijman WC, Van Leeuwen SPJ, de Boer J, Zeilmaker MJ. 2008. Dietary intake and risk evaluation of polybrominated diphenyl ethers in the Netherlands. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52: 204-216.
- Barber JL, Berger U, Chaemfa C, Huber S, Jahnke A, Temme C, Jones KC. 2007. Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in air samples from northwest Europe. *J. Environ. Monitor.*, 9: 530-541.
- Björklund JA, Thuresson K, de Wit CA. 2009. Perfluoroalkyl Compounds (PFCs) in indoor dust: concentrations, human exposure estimates, and sources. *Environ. Sci. Technol.*, 43: 2276-2281.
- Bocio a., Llobet JM., Domingo JL, Corbella J., Teixido A., Casas C. 2003. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Foodstuffs: Human Exposure through the Diet. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 3191-3195.
- Brochu P, Ducre-Robitaille JF, Brodeur J. 2006. Physiological daily inhalation rates for free-living individuals aged 2.6 months to 96 years based on doubly labeled water measurements: Comparison with time-activity-ventilation and metabolic energy conversion estimates. *Human Ecol. Risk Assess.*, 12: 736-761.
- Calafat AM, Kuklenyik Z, Caudill SP, Reidy JA, Needham L. 2006. Perfluorochemicals in pooled serum samples from the United States residents in 2001 and 2002. *Environ. Sci. Technol.*, 40: 2128–2134.
- Calafat AM, Kuklenyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Tully JS, Needham LL. 2007. Serum concentrations of 11 polyfluoroalkyl compounds in the US population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2000. *Environ. Sci. Technol.*, 41: 2237–2242.
- Darnerud PO, Atuma S, Aune M, Bjerselius R, Glynn A, Grawe KP, Becker W. 2006. Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket studies. *Food Chem. Toxicol.*, 44: 1597-1606.
- De Vriese S. *et al.* 2006. De Belgische voedselconsumptiepeiling 1 - 2004, Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, afdeling Epidemiologie
- De Winter-Sorkina, R. *et al.* (2006). Brominated flame retardants: Occurrence, dietary intake and risk assessment, RIVM, Bilthoven, the Netherlands.
- Dorsey WC, Tchounwou, PB, Ishaque AB, Shen E. 2002. Transcriptional activation of stress genes and cytotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells exposed to pentachlorophenol. *Int. J. Mol. Sci.*, 3: 992-1007.
- EFSA (2008). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. *The EFSA Journal*, 653: 1- 31.
- Ericson, I, Marti-Cid R, Nadal M, Van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL. 2008. Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: Intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market. *J. Agr. Food Chem.*, 56 (5): 1787 - 1794.
- Ericson I, Gomez M, Nadal M, van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL. 2007. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environ. Int.*, 33: 616–623.
- Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2007. Perfluorinated chemicals and fetal growth: A study within the Danish National Birth Cohort. *Environ. Health Perspect.*, 115: 1677-1682.
- Fromme H, Midasch O, Twardella D, Angerer J, Boehmer S, Liebl B. 2007. Occurrence of perfluorinated substances in adult German population in Southern Bavaria. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*; 80: 313-319.
- Fromme H, Nitschke L, Kiranoglu M, Albrecht M, Völkel W. 2008. Perfluorinated substances in house dust in Bavaria, Germany. *Organohalogen Compd.*, in press.
- FSA (Food standards agency), 2006. Fluorinated chemicals: UK dietary intakes. Food Survey Information Sheet 11/06, London, UK
- Giesy JP, Kanan K. 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 1339-1342.
- Glorieux, I., Minnen, J. *Website "Belgisch tijdsbudgetonderzoek"*, <http://www.time-use.be>.
- Gomora B., Herrero L., Gonzalez MJ. 2006. Survey of Polybrominated Diphenyl Ether Levels in Spanish Commercial Foodstuffs. *Environ. Sci. Technol.* 40: 7541-7547.



- Goosey E, Abou-Elwafa AM, Harrad S. 2008. Dust from primary school and nursery classrooms in the UK: Its significance as a pathway to exposure to PFOS, PFOA, HBCDs and TBBP-A. *Organohalogen Compd.*, 70:855–858.
- Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MHA, Andersson PL, Legler J, Brouwer A. 2006. In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol. Sci.*, 92: 157-173.
- Harrad S, Ibarra C, Diamond M, Melymuk L, Robson M, Douwes J, Roosens L, Dirtu AC, Covaci A. 2008. Polybrominated diphenyl ethers in domestic indoor dust from Canada, New Zealand, United Kingdom and United States. *Environ. Int.*, 34: 232-238.
- Hoff PT, Van de Vijver K, Van Dongen W, Esmans EL, Blust R, De Coen W. 2003. Perfluorooctane sulfonic acid in bib (*Trisopterus luscus*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) from the Western Scheldt and the Belgian North Sea: Distribution and biochemical effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22: 608-614.
- Holmström KE, Berglund M, Järnberg U. 2005. Exposure to perfluorinated acids in 108 Swedish women in relation to methylmercury and fish consumption. Poster ANA003.. Fluoros" 9th International Symposium on Fluorinated Alkyl Organics in the Environment, August 2005, Toronto, Canada.
- Hölzer J, Midasch O, Rauchfuss K, Kraft M, Reupert R, Angerer J, Kleeschulte P, Marschall N, Wilhelm M. 2008. Biomonitoring of perfluorinated compounds in children and adults exposed to perfluorooctanoate (PFOA)-contaminated drinking water. *Environ. Health Perspect.*, 116: 651–657.
- Jahnke A, Berger U, Ebinghaus R, Temme C. 2007. Latitudinal gradient of airborne polyfluorinated alkyl substances in the marine atmosphere between Germany and South Africa (53 degrees N-33 degrees S). *Environ. Sci. Technol.*, 41: 3055-3061.
- Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, Mohd MA, Oliveira J, Van Wouwe N, Yang JH, Aldous KM. 2004. Perfluorooctane sulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 4489-4495.
- Kärman A, van Bavel B, Järnberg U, Hardell L, Lindström G. 2004. Levels of perfluoroalkylated compounds in whole blood from Sweden. *Organohalogen Compd.*, 66: 4058–4062.
- Kärman A, van Bavel B, Järnberg U, Hardell L, Lindström G. 2006. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere*, 64: 1582-1591.
- Kärman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, Lignell S, Lindström G. 2007. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: Levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996–2004, in Sweden. *Environ. Health Perspect.*, 115: 226-230.
- Knutsen HK, Kvale HE, Thomsen C, Froshaug M, Haugen M, Becher G, Alexander J, Meltzer HM. 2008. Dietary exposure to brominated flame retardants correlates with male blood levels in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52: 217-227.
- Kubwabo C, Stewart B, Zhu J, Marro L. 2005. Occurrence of perfluorosulfonates and other perfluorochemicals in dust from selected homes in the city of Ottawa, Canada. *J. Environ. Monitor.*, 7: 1074-1078.
- Legler J. 2008. New insights into the endocrine disrupting effects of brominated flame retardants. *Chemosphere*, 73: 216-222.
- Liu C, Du Y, Zhou B. 2007. Evaluation of estrogenic activities and mechanism of action of perfluorinated chemicals determined by vitellogenin induction in primary cultured tilapia hepatocytes. *Aquat. Toxicol.*, 85: 267-277.
- Loos R, Wollgast J, Huber T, Hanke G. 2007. Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal. Bioanal. Chem.*, 387: 1469-1478.
- Maras M, Vanparys C, Muylle F, Robbens J, Berger U, Barber JL, Blust R, De Coen W. 2006. Estrogen-like properties of fluorotelomer alcohols as revealed by MCF-7 cancer cell proliferation. *Environ. Health Persp.*, 114: 100-105.
- Martin JW., K. Kannan, U. Berger, P. de Voogt, J. Field, J. Franklin, J.P. Giesy, T. Harner, D.C.G. Muir, B. Scott, M. Kaiser, U. Järnberg, K.C. Jones, S.A. Mabury, H. Schroeder, M. Simcik, C. Sottani, B. Van Bavel, A. Kärman, G. Lindström, S. van Leeuwen. 2004. Analytical challenges hamper perfluoroalkyl research. *Environ. Sci. Technol.* 38, 248A-255A.
- Midash O, Schettgen T, Angerer J. 2006. Pilot study on the perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate exposure of the German general population. *Internat. J. Hyg. Environ. Health*, 209: 489–496.
- Moriwaki H, Yumiko T, Arakawa R. 2003. Concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in vacuum cleaner dust collected in Japanese homes. *J. Environ. Monitor.*, 5: 753-757.
- Nakari T, Pessala P. 2005. In vitro estrogenicity of polybrominated flame retardants. *Aquat. Toxicol.*, 74:272-279.

- Nakata A, Katsumata T, Iwasaki Y, Ito R, Saito K, Izumi S, Makino T, Kishi R, Nakazawa H. 2007. Measurement of perfluorinated compounds in human milk and house dust. *Organohalogen Compd.*, 69: 2844–2846.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2002. Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts. Report ENV/JM/RD(2002)17/FILAN. 362p.
- Olsen GW, Burris JM, Burlew MM, Mandel JH. 2003. Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations and medical surveillance examinations. *J. Occup. Environ. Med.*, 45: 260-270.
- Olsen GW, Huang HY, Helzlsouer KJ, Hansen KJ, Butenhoff JL, Mandel JH. 2005. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ. Health Persp.*, 113: 539-545.
- Ronisz D, Finne EF, Karlsson H, Forlin L. 2004. Effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane (HBCDD), and tetrabromobisphenol A (TBBPA), on hepatic enzymes and other biomarkers in juvenile rainbow trout and feral eelpout. *Aquat. Toxicol.*, 69: 229-245.
- Roosens L, Neels H, Koppen G, Schoeters G, Nelen V, van Larebeke N, Blust R, Covaci A. Determination of the PBDE levels in pooled blood samples from Flanders. In voorbereiding.
- Roosens L, Abdallah MAE, Harrad S, Neels H, Covaci A. 2009. Factors influencing concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in students from Antwerp (Belgium). *Environ. Sci. Technol.*, 43: 3535-3541.
- Schechter A, Pöpke O, Tung KC, Brown T, Musumba A. 2006. Changes in polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in cooked food. *Toxicol. Environ. Chem.*, 88: 207-211.
- Schechter A., Harris TR., Shah N., Musumba A., Papke O. 2008. Brominated flame retardants in US food. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52: 266 – 272.
- Schmid P, Kohler M, Gujer E, Zennegg M, Lanfranchi M. 2007. Persistent organic pollutants, brominated flame retardants and synthetic musks in fish from remote alpine lakes in Switzerland. *Chemosphere*, 67: S16-S21.
- Schrap SM, Pijnenburg AMCM, Geerdink RB. 2004. Geperfluoreerde verbindingen in Nederlands oppervlaktewater; een screening in 2003 van PFOS en PFOA. RIKZ- Rapport 2004037 Rijkswaterstaat/ Rijksinstituut voor Kust en Zee, Den Haag.
- Sellström U, De Wit CA, Lundgren N, Tysklind M. 2005. Effect of sewage-sludge application on concentrations of higher-brominated diphenyl ethers in soils and earthworms. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 9064-9070.
- Seuntjens P. *et al.* 2006. Chain model for the impact analysis of contaminants in primary food products, D/2006/1191/29, Belgian Science Policy, Brussel, België.
- Shaw SD, Berger ML, Brenner D, Carpenter DO, Tao L, Hong CL, Kannan K. 2008. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in farmed and wild salmon marketed in the northeastern United States. *Chemosphere*, 71: 1422-1431.
- Sioen I, Van Camp J, Verdonck F, Verbeke W, Vanhonacker F, Willems J, De Henauw S. 2008. Probabilistic intake assessment of polybrominated diphenyl ethers and omega-3 fatty acids through fish consumption. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52: 250-257.
- Sioen I. *et al.* 2007. Determining the origin of seafood products on the Belgian market: Challenges to traceability and database management. *The Open Food Science Journal*, 1: 33-42.
- Skutlarek D, Exner M and Färber H. 2006. Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 13: 299-307.
- Song R, Duarte T, Almeida G, Farmer P, Cooke M, Zhang W, Sheng G, Fu J, Jones G. 2009. Cytotoxicity and gene expression profiling of two hydroxylated polybrominated diphenyl ethers in human H295R adrenocortical carcinoma cells. *Toxicol. Lett.*, 185: 23-31.
- Soto A.M, Sonnenschein, C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Serrano FO. 1995. The E-screen assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Persp.*, 103: 113–122.
- Strynar MJ, Lindstrom AB. 2008. Perfluorinated compounds in house dust from Ohio and North Carolina, USA. *Environ. Sci. Technol.*, 42: 3751-3756.
- Suchenwirth RHR, Jüriling H, Huppermann R, Bücking M. 2006. Perfluorierte Alkyl-Substanzen (PFAs) in der Muttermilch. Ergebnisse und vorläufige Bewertungen einer Pilotstudie des niedersächsischen Landesgesundheitsamtes. NGLA Umwelt und Gesundheit, Report 3.
- Svendsen TC, Vorkamp K, Ronsholdt B, Frier JO. 2007. Organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in four geographically separated populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Environ. Monitor.*, 9: 1213-1219.
- Tao L, Kannan K, Wong CH, Arcaro KF, Butenhoff JL. 2008. Perfluorinated compounds in human milk from Massachusetts, U.S.A. *Environ. Sci. Technol.*, 42: 3096-3101.

- Tchounwou PB, Wilson BA, Ishaque AB, Schneider J. 2001. Transcriptional activation of stress genes and cytotoxicity in human liver carcinoma cells (HepG(2)) exposed to 2,4,6-trinitrotoluene, 2,4-dinitrotoluene, and 2,6-dinitrotoluene. *Environ. Toxicol.*, 16: 209-216.
- Tittlemier SA, Pepper K, Seymour C, Moisey J, Bronson R, Cao X-L, Dabeka RW. 2007. Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and fast food items prepared in their packaging. *J. Agr. Food Chem.*, 55: 3203-3210.
- Thustos C. 2007. Investigation into levels of dioxins, furans, polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in fishery produce in Ireland, Food Safety Authority of Ireland Dublin, Ireland.
- Todd MD, Lee MJ, Williams JL, Nalezny JM, Gee P, Benjamin MB, Farr SB. 1995. The Cat-Tox (L) Assay - A Sensitive and Specific Measure of Stress-Induced Transcription in Transformed Human Liver-Cells. *Fundamental and Applied Toxicology*, 28: 118-128.
- Tooze JA, Midthune D, Dodd KW, Freedman LS, Krebs-Smith SM, Subar AF, Guenther PM, Carroll RJ, Kipnis V. 2006. A new statistical method for estimating the usual intake of episodically consumed foods with application to their distribution. *J. Amer. Diet Assoc.*, 106: 1575-1587.
- Tomy GT, Budakowski W, Halldorson T, Helm PA, Stern GA, Friesen K, Pepper K, Tittlemier SA, Fisk AT. 2004. Fluorinated Organic compounds in an Eastern Arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 6475-6481.
- TOR. Tijdsbestedingsonderzoek tor '99 - tor '04, [www.tijdsbestedingsonderzoek.be](http://www.tijdsbestedingsonderzoek.be).
- US-EPA (2008a). Toxicological review of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (bde-99) - in support of summary information on the integrated risk information system (iris), United States Environmental Protection Agency.
- US-EPA (2008b). Toxicological review of 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabromodiphenyl ether (bde-209) - in support of summary information on the integrated risk information system (iris), United States Environmental Protection Agency.
- US-EPA (2008c). Toxicological review of 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ether (bde-153) - in support of summary information on the integrated risk information system (iris), United States Environmental Protection Agency.
- US-EPA (2008d). Toxicological review of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (bde-47) - in support of summary information on the integrated risk information system (iris), United States Environmental Protection Agency.
- Van Den Heuvel R, Witters H, Schoeters G, Nobels I, Vanparrys C, De Coen W, Robbens J. 2008. Uitwerken en uitvoeren van een pilotproject voor effectgerichte metingen om de luchtkwaliteit in Vlaanderen te kunnen evalueren Overheidsopdracht nr. DTG/OL200500031/5170/M&G
- Van den Heuvel-Greve M, Leonards P, Vethaak D. 2006. Dioxineonderzoek Westerschelde: meting van gehalten aan dioxinen, dioxineachtige stoffen en andere mogelijke probleemstoffen in visserijproducten, sediment en voedselketens van de Westerschelde] Rapport RIKZ, 2006011 RIKZ: Middelburg, The Netherlands 80 pp.
- Van Holderbeke M. *et al.* 2007. Review of the soil ingestion pathway in human exposure assessment - study in support of the benekempen project / subproject on harmonization of the human health risk assessment methodology, VITO, Mechelen, Belgium.
- van Leeuwen S P J, de Boer J. 2008. Brominated flame retardants in fish and shellfish - levels and contribution of fish consumption to dietary exposure of dutch citizens to HBCD. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52: 194-203.
- van Leeuwen SPJ, Swart CP, van der Veen I, de Boer J. 2009. Significant improvements in the analysis of perfluorinated compounds in water and fish: Results from an interlaboratory method evaluation study. *J. Chromatogr. A*, 1216: 401-409.
- Vanparrys C, Maras M, Lenjou M, Robbens J, Van Bockstaele D, Blust R, De Coen W. 2006. Flow cytometric cell cycle analysis allows for rapid screening of estrogenicity in MCF-7 breast cancer cells. *Toxicol. in Vitro*, 20: 1238-1248.
- Völkel W, Genzel-Borovicze'ny O, Demmelmair H, Gebauer C, Koletzko B, Twardella D, Raab U, Fromme H. 2008. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in human breast milk. Results of a pilot study. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 211: 440-446.
- Voorspoels S, Covaci A, Neels H, Schepens P. 2007. Dietary PBDE intake: A market-basket study in Belgium. *Environ. Int.*, 33: 93-97.
- Voorspoels S, Covaci A, Schepens P. 2003. Polybrominated Diphenyl Ethers in Marine species from the Belgian North Sea and the Western Scheldt Estuary: Levels, Profiles, and Distribution. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 4348-4357.
- Walter H, Consolaro F, Gramatica P, Scholze M, Altenburger R. 2002 Mixture toxicity of priority pollutants at no observed effect concentrations (NOECs). *Ecotoxicology*, 11: 299-310.
- Wanner A, Heitmann D, Fromme H, Korner W. 2008. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) in indoor air and house dust from homes in southern bavaria. *Gefahrst. Reinhalt. L.*, 68: 71-77.

- Webster L, Russell M, Adefehinti F, Dalgarno EJ, Moffat CF. 2008. Preliminary assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the scottish aquatic environment, including the firth of clyde. *J. Environ. Monitor.*, 10: 463-473.
- WHO/GEMS/Food-EURO (1995). Second workshop on reliable evaluation of low level contamination of food. Kulmbach (Germany), World Health Organization.
- Wilford BH, Thomas GO, Jones KC, Davison B, Hurst DK. 2008. Decabromodiphenyl ether (deca-bde) commercial mixture components and other PBDEs in airborne particles at a UK site. *Environ. Int.*, 34: 412-419.
- Wolf CJ, Fenton SE, Schmid JE, Calafat AM, Kuklenyik Z, Bryant XA, Thibodeaux J, Das KP, White SS, Lau CS, Abbott BD. 2007. Developmental toxicity of perfluorooctanoic acid in the CD-1 mouse after cross-foster and restricted gestational exposure. *Toxicol. Sci.* 95: 462-473.
- Ye X, Strynar MJ, Nakayama SF, Varns J, Helfant L, Lazorchak J, Lindstrom AB. 2008. Perfluorinated compounds in whole fish homogenates from the Ohio, Missouri, and Upper Mississippi rivers, USA. *Environ. Pollut.*, 156:1227-1232.
- Yu Z Q, Peng PA, Sheng GY, Fu J. 2008. Determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers in air and soil by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1190: 74-79.
- Zeller H, Kirsch P. 1970. Hexabromocyclododecane: 90-day Feeding Trials With Rats. *Pharmakologisches Institute, BASF Institute for Industrial Hygiene and Pharmacology, Federal Republic of Germany. EPA/OTS.*