

Report to the Swedish EPA (the Health-Related Environmental Monitoring Program)

**Koppling mellan halter av per- och polyfluorerade
alkylsubstanter i dricksvatten och blodserum bland deltagarna i
Riksmaten ungdom 2016-17**

Anders Glynn¹, Jennifer Nyström¹, Jonathan Benskin², Merle Plassmann², Oskar Sandblom²,
Sanna Lignell³, Irina Gyllenhammar³, Anna Karin Lindroos, Lutz Ahrens⁴

¹Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Uppsala

²Institutionen för miljövetenskap och analytisk kemi (ACES), Stockholms universitet, Stockholm

³Risk- och nyttovärderingsavdelningen, Livsmedelsverket, Uppsala

⁴Institutionen för vatten och miljö, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Uppsala

2020-02-17

Koppling mellan halter av per- och polyfluorerade alkylsubstanter i dricksvatten och blodserum bland deltagarna i Riksmaten ungdom 2016-17

Rapportförfattare Anders Glynn, SLU Jennifer Nyström, SLU Jonathan Benskin, Stockholms universitet Merle Plassmann, Stockholms universitet Oskar Sandblom, Stockholms universitet Sanna Lignell, Livsmedelsverket Irina Gyllenhammar, Livsmedelsverket Anna Karin Lindroos, Livsmedelsverket Lutz Ahrens, SLU	Utgivare SLU Postadress Box 7028, 750 07 Uppsala Telefon 018-671000
Rapporttitel Koppling mellan halter av per- och polyfluorerade alkylsubstanter i dricksvatten och blodserum bland deltagarna i Riksmaten ungdom 2016-17	Beställare Naturvårdsverket 106 48 Stockholm Finansiering Nationell hälsorelaterad miljöövervakning
Nyckelord för plats Sverige	
Nyckelord för ämne PFAS, blodserum, dricksvatten, exponering, barn, ungdomar	
Tidpunkt för insamling av underlagsdata 2016-17 och 2018	
Sammanfattning Den nationella matvaneundersökningen Riksmaten ungdom 2016-17 (RMU) användes för att studera sambandet mellan halter av per- och polyfluorerade alkylsubstanter (PFAS) i deltagarnas blodserum och dricksvatten (DV) som deltagarna druckit. Syftet var att undersöka om låggradigt PPFAS-förorenat DV (<10 ng/L av enskilda PFAS) kan vara en viktig källa för PFAS-exponering bland barn och ungdomar i Sverige (ålder 11-20 år). Denna kunskap är viktig för framtida riskbedömning och riskhantering av PFAS i DV. Halterna av redan välstuderade PFAS i serum från de 1097 deltagarna i RMU låg inom förväntade intervall. Vissa deltagare från Uppsala och Ronneby hade klart förhöjda halter av perfluorhexansulfonat (PFHxS) (Uppsala/Ronneby) och perfluoroktansulfonat (PFOS) (Ronneby) trots att de provtagits flera år efter att PFAS-förorening av DV åtgärdats på dessa orter. Detta beror på att PFHxS och PFOS försvinner mycket långsamt ur kroppen. Bland dåligt undersökta PFAS detekterades perfluoropentansulfonat (PFPeS), perfluorheptansulfonat (PFHpS), linjär metylperfluoroktansulfonamidättiksyra (lin MeFOSAA), 9-klorhexadekafluor-3-oxanon-1-sulfonsyra (9Cl-PF3ONS) och 6:2 1H,1H,2H,2H-perfluoroktansulfonat (6:2 FTSA) i en del deltagare. Halterna av PFAS i DV analyserades 2018 i prover från de 47 vattenverk (VV) som levererade DV till deltagarnas skolor och hem (2 prov per VV). Halterna var i allmänhet låga (<10 ng/L av enskilda PFAS). Inget prov överskred Livsmedelsverkets nuvarande åtgärdsgräns på 90 ng	

summa11PFAS/L. Förutom de 11 PFAS som ingår i åtgärdsgränsen detekterades perfluoroktansulfonamid (FOSA) i många DV-prover. Dessutom pekar resultaten på att PFPeS och PFHpS kan finnas som förorening i DV, eftersom deltagare från Uppsala och Ronneby hade förhöjda halter av dessa PFAS. Det finns många livsstilsfaktorer och demografiska faktorer som påverkar serum-halterna av PFAS. En statistisk analys av sambanden mellan serum- och DV-halter av PFAS (General Linear Model), där hänsyn togs till denna påverkan, visade att serumhalterna av PFHxS, PFOS, perfluoroktansyra (PFOA) och perfluornonansyra (PFNA) ökade med ökad halt i DV. Resultaten antyder att låggradigt PFAS-förorenat DV kan vara en viktig källa för barns och ungdomars exponering för vissa PFAS.

Sammanfattning

Högfluorerade ämnen, så kallade per- och polyfluorerade alkylsubstanser (PFAS), är industrikemikalier som finns som förorening i mat och dricksvatten (DV). Flera studier runt om i världen har visat att populationer som druckit starkt PFAS-förorenat DV har kraftigt förhöjda blodhalter av de PFAS som kontaminerat dricksvattnet. I Sverige har det uppskattats att mer än 3 miljoner invånare har DV med låga men mätbara halter av vissa PFAS. Det är i det närmaste okänt hur mycket detta låggradigt PFAS-förorenade DV (halter av enskilda PFAS <10 ng/L) bidrar till befolkningens PFAS-exponering. Bättre kunskaper om detta är viktigt, som vetenskapligt underlag för framtida riskbedömning och riskhantering av PFAS i dricksvatten.

I den landsomfattande studien Riksmaten ungdom 2016-17 (RMU) har matvanorna hos barn (5:e-klassare) och ungdomar (8:e-klassare och årskurs 2 gymnasiet) undersökts (N=1097). Vi har använt RMU för att studera sambandet mellan PFAS-halter i blodserum och PFAS-halter i DV som deltagarna druckit. Kontakt togs med de vattenverk (VV) som levererat DV till de skolor som RMU-deltagarna gick i vid provtagningstillfället (N=47). Prov på det utgående DV togs en gång på våren/försommaren och en gång på hösten 2018 och 24 PFAS analyserades. RMU-deltagarna provtogs 2016-17 och 44 PFAS analyserades i serum. Perfluorhexansulfonat (PFHxS), perfluoroktansulfonat (PFOS), perfluoroktansyra (PFOA) och perfluornonansyra (PFNA), som kunde detekteras i mer än 80 % av serumproverna och som också kunde detekteras i DV, användes i den statistiska analysen av samband mellan serum- och DV-halter.

Endast RMU-deltagare som fått DV från provtagna VV både i skolan och hemma inkluderades i den statistiska analysen (N=882). Sambanden mellan PFAS-halter i serum och DV analyserades med hjälp av General Linear Model-analys, med ett stort antal co-variater (livsstilsfaktorer, livsmedelskonsumtion, demografi) som kan tänkas vara störfaktorer för serum-DV-sambanden. I en sensitivitetsanalys exkluderades RMU-deltagare som bodde i områden med en känd historisk PFAS-förorening av DV innan 2012-13, det vill säga deltagare från Uppsala och Ronneby.

Majoriteten av VV hade DV-halter av enskilda PFAS under 10 ng/L, med undantag för ett VV som vid vår/försommar-provtagningen hade en halt av perfluorbutansyra (PFBA) runt 20 ng/L. Inget VV överskred Livsmedelsverkets åtgärdsgräns för summa11PFAS (90 ng/L). Den högsta summa11PFAS-halten som observerades var 38 ng/L under vår/försommarprovtagningen. Förutom de 11 PFAS som ingår i åtgärdsgränsen detekterades perfluoroktansulfonamid (FOSA) i 30 DV-prover på våren/försommaren och i 20 prover på hösten. Det bör övervägas om denna PFAS ska inkluderas i en framtida reviderad åtgärdsgräns för PFAS i dricksvatten.

Halterna av de mer välstuderade PFAS i serum låg inom förväntade intervall, baserat på tidigare studier från Sverige och Norge. Vissa deltagare från Uppsala hade som förväntat klart förhöjda halter av PFHxS, medan mycket höga halter av PFHxS och PFOS observerades hos vissa deltagare från Ronneby. Bland PFAS som inte studerats så mycket tidigare detekterades perfluorpentansulfonat (PFPeS), perfluorheptansulfonat (PFHpS), linjär metylperfluoroktansulfonamidättiksyra (lin MeFOSAA), 9-klorhexadekafluor-3-oxanon-1-sulfonsyra (9Cl-PF3ONS) och 6:2 1H,1H,2H,2H-perfluoroktansulfonat (6:2 FTSA) i mer än 20 deltagare. Högre halter av PFPeS och PFHpS detekterades bland deltagare från Uppsala

och Ronneby än bland övriga deltagare. Detta antyder att dessa två PFSA fanns med som kontaminanter i DV innan 2012-13 på båda orterna. PFPeS och PFHpS har inte rutinmässigt analyserats i dricksvatten, men våra resultat antyder att det bör göras i framtiden för att ta fram underlag för framtida revisioner av Livsmedelsverkets åtgärdsgräns.

De justerade geometriska medelvärdena för PFHxS, PFOS, PFOA och PFNA i serum ökade med ökad medelhalt i DV. När deltagarna från Uppsala och Ronneby exkluderades i GLM-analysen kvarstod skillnaderna mellan deltagare som fått DV med de lägsta PFAS-halterna och deltagare som fått DV med de högsta medelhalterna. Eftersom inga medelhalter av de 4 enskilda PFAS låg över 10 ng/L så antyder resultaten att DV med låggradig förorening av PFHxS, PFOS, perfluoroktan syra (PFOA) och PFNA är en viktig källa för PFAS-exponering bland barn/ungdomar i Sverige.

Introduktion

Per- och polyfluorerade alkylsubstanser (PFAS) är ytaktiva industrikemikalier med global användning. Långväga transport av PFAS sker i atmosfären och oceanerna, men också via handel med produkter som innehåller PFAS inom och mellan kontinenter.^{1, 2} Vissa polyfluorerade alkylsubstanser kan brytas ner till perfluorerade alkylsyror (PFAA) som är mycket stabila i miljön och som har detekterats i vilda djur och människor över hela världen.² ³ Livsmedel är en viktig källa för PFAA-exponering bland befolkningen⁴⁻⁶, men dricksvatten (DV) har visat sig ha betydelse för exponeringen i områden där DV förorenats från punktkällor. En viktig sådan punktkälla är brandövningsplatser där högfluorerade brandsläckningsskum använts under många år. DV har också förorenats i områden kring fabriker som tillverkar PFAS.⁷⁻¹³ Höga DV-halter av PFAA (>100 ng/L av enskilda PFAA) har uppmätts i de mest uppmärksammade fallen, och befolkningsgrupper som druckit det förorenade vattnet under lång tid har haft höga halter av vissa PFAA i blodserum/plasma.⁷⁻¹³

I en studie från Uppsala rapporterades förhöjda blodserumhalter av perfluorhexansulfonat (PFHxS) och perfluoroktansulfonat (PFOS) bland barn som i många år bott i områden som fått förorenat DV.¹⁴ PFHxS- och PFOS-koncentrationerna i DV uppmättes till 25-45 ng/L vid tidpunkten för upptäckten av föroreningen 2012.¹⁴ Studien pekade också på att DV förorenat med låga bakgrundshalter av PFAA (<10 ng/L av enskilda PFAS) kan vara en källa för barns exponering. Förhöjda serum-halter av perfluorbutansulfonat (PFBS) och PFOA uppmättes i exponerade barn trots att halterna av ämnena i det förorenade DV med stor sannolikhet var mindre än 10 ng/L.¹⁵

Stora osäkerheter finns dock fortfarande i frågan om låggradigt PFAS-förorenat DV som källa till barn och ungdomars PFAS-exponering. I den nationella matvaneundersökningen Riksmaten ungdom 2016-17 (RMU) studerades matvanorna hos barn (5:e-klassare) och ungdomar (8:e-klassare och årskurs 2 gymnasiet). Blodprov togs på cirka en tredjedel av deltagarna. Vi har använt RMU för att undersöka sambandet mellan deltagarnas PFAS-halter i blod och halter i DV som levereras till deltagarnas skolor och hem. Studien ger ett viktigt underlag för framtida riskvärdering av låggradigt PFAS-förorenat DV (<10 ng/L av enskilda PFAS). Den är också ett viktigt underlag för framtida lagstiftningsarbete gällande PFAS inom kemikalieområdet (Reach), samt för regelarbete inom miljö/DV/livsmedelsområdet.

Studiedeltagare och metoder

Riksmaten ungdom 2016-17 – urval av skolor

Genomförandet av matvaneundersökningen Riksmaten ungdom 2016-17 fick etiskt godkännande av Regionala etikprövningsnämnden i Uppsala (Nr 2015/190). Rekrytering skedde via ett nationellt representativt urval av skolor med barn/ungdomar i årskurs 5 och 8, samt årskurs 2 på gymnasiet, baserat på skolans huvudman (kommunal/enskild), kommuntyp och skolstorlek (>10 elever per årskurs).^{16, 17} Urvalet grundades på de tio kommuntyper som Sveriges kommuner och landsting (SKL) angett 2011. Sveriges kommuner delades av SCB in i fem undergrupper: Storstäder; Förortskommuner tillorstäder; Större städer/förortskommuner till större städer; Kommuner i tätbefolkad region samt Övriga kommuner (i Övriga kommuner ingick Pendlingskommuner, Turism- och besöksnäringsskommuner, Varuproducerande kommuner, Glesbygdskommuner och Kommuner i glesbefolkad region). Det slutliga urvalet bestod av 619 skolor – ungefär 200 per årskurs. Målet med rekryteringen var att inkludera 3000 deltagare, jämnt fördelat över årskurserna och läsåret.¹⁶

Alla utvalda skolor fick en inbjudan till undersökningen via e-post. Ca 40% av skolorna tillfrågades även om deltagande i insamling av blod. Om en skola inte meddelat sitt intresse inom en vecka kontaktades rektorn via telefon. Telefonrekryteringen pågick tills önskat antal klasser rekryterats. I gymnasieskolorna eftersträvades deltagande av 32 procent yrkesförberedande program och 68 procent högskoleförberedande program, baserat på statistik från Skolverket 2015-16. Totalt bjöds 5145 elever in att delta och 3477 deltog (67,5 %). Bland deltagarna lämnade 1305 också blodprover (55 % av de tillfrågade).^{16, 17}

Datainsamling

Datainsamlingen inleddes vid ett besök av två till tre personer från Livsmedelsverket på de skolor som tackat ja till deltagande. Blodprover togs av personal från närmaste Arbets- och miljömedicinska klinik (AMM). Livsmedelskonsumtion registrerades retrospektivt i 3 dagar med hjälp av det digitala verktyget RiksmatenFlex.^{16, 17} Demografiska data och data om livsstilsfaktorer, konsumtion av livsmedel som äts sällan, och medicinska faktorer hämtades från enkäterna ”Du och familjen”, ”Matvanor” och ”Mer matvanor”, som fylldes i av deltagarna under skolbesöket, och från enkäten ”För föräldrar” som fylldes i av föräldrarna. Längd och vikt mättes under skolbesöket av personal Livsmedelsverket eller AMM-klinikerna.^{16, 17}

Tabell 1. Information om deltagande ungdomar i RMU som hade registrerat sin livsmedelskonsumtion fullständigt, fyllt i enkäterna och fått PFAS analyserat i serum.

	Alla (n=1097) Median (min-max)	Pojkar (n=481)	Flickor (n=616)
Ålder (år)	14,6 (10,6-21,1)	14,4 (10,5-14,7)	14,7 (10,8-21,1)
BMI (kg/m ²)	20,5 (13,9-37,2)	20,0 (14,4-37,2)	20,8 (13,9-35,6)
Menstruation (antal år)			2,2 (0-10)
Fisk/skaldjurskonsumtion (g/dag)	17,0 (0-201)	23,5 (0-202)	13,2 (0-187)
	n	n	n
Helamning	1060	462	598
Helammades aldrig	45	18	27
0,5 månader	66	29	37
2 månader	136	62	74
5 månader	453	197	256
9,5 månader	267	119	148
12 månader	93	37	56
Födelseland-deltagaren	1096	481	615
Låginkomstländer	35	16	19
Lägre/medel inkomstländer	10	4	6
Övre/medel inkomstländer	45	19	26
Höginkomstländer	1006	442	564
Födelseland-mamman	1093	480	613
Låginkomstländer	55	22	33
Lägre/medel inkomstländer	16	12	4
Övre/medelinkomstländer	116	44	72
Höginkomstländer	904	401	503
Okänt	2	1	1
Födelseland - pappan	1093	480	613
Låginkomstländer	60	24	36
Lägre/medelinkomstländer	15	11	4
Övre/medelinkomstländer	119	51	68
Höginkomstländer	896	393	503
Okänt	3	1	2
Utbildningsnivå-mamma			
Saknar formell utbildning	21	9	12
Grundskola eller motsvarande	63	25	38
2-årig gymnasium eller motsvarande	162	63	99
Minst 3-årigt gymnasium	229	99	130
Universitet	564	255	309
Okänt	31	14	17
Utbildningsnivå-pappa	1063	464	599
Saknar formell utbildning	19	7	12
Grundskola eller motsvarande	92	36	56
2-årig gymnasium eller motsvarande	215	94	121
Minst 3-årigt gymnasium	280	132	148
Universitet	411	179	232
Okänt	46	16	30
Rökvanor – deltagare¹	1094	480	614
Icke-rökare	953	429	524
Har rökt	23	8	15
Röker ibland	87	31	56
Röker dagligen	14	5	9
Vill inte svara	17	7	10
Snusvanor – deltagare¹	1093	480	613
Icke-snusare	1014	440	574
Har snusat	15	8	7
Snusar ibland	36	14	22
Snusar dagligen	20	11	9
Vill inte svara	8	7	1
Menstruerar			608
Ja			440
Nej			168
Får dricksvatten från RMU vattenverk	1097	481	616
Ja	882	396	486
Nej	215	85	130

¹Frågor om rök- och snusvanor ställdes enbart till deltagare i årskurs 8 och 2 på gymnasiet. Deltagare i årskurs 5 antogs vara icke-snusare/rökare.

Blodprov och PFAS-analys

Deltagarna behövde ej vara fastande när blodprov togs. Blodet centrifugerades på plats och serum frystes ner till -20 °C.¹⁶ Proverna analyserades på Institutionen för miljövetenskap och analytisk kemi (ACES), Stockholms universitet. För mer fullständig beskrivning av hur analyserna utfördes se Bilaga. PFAS-substansernas namn och förkortningar presenteras i Tabell B1 (Bilaga).

Proven extraherades enligt en metod beskriven av Powley et al.¹⁸ med vissa justeringar. I korthet tillsattes isotopmärkta interna standarder (0,5 ng vardera) till proverna i polypropylen (PP)-centrifugrör. Proverna extraherades sedan två gånger med 4 ml acetonitril i ett ultraljudsbad. Efter varje extraktion centrifugerades provet och de två supernatant-extrakten kombinerades och koncentrerades till 1 ml under en ström av kväve. Det koncentrerade extraktet renades med hjälp av grafitiserat kol och ättiksyra. En volym av 0,5 ml av det renade extraktet sattes till 0,2 ml 4 mM vattenlösning av ammoniumacetat och volymetriska standarder M8PFOA och M8PFOS (50 µL av en 10 pg/µL-lösning) tillsattes. Extraktet lagrades vid -20 ° C före analys. Proven analyserades på en Waters Acquity ultra performance vätskekromatograf (UPLC) kopplad till en Waters Xevo TQS trippel quadrupol-masspektrometer. Kromatografisk separation av målanalyter uppnåddes på en BEH C18-kolonn kopplad till en BEH C18-analytisk kolonn. Den mobila fasen bestod av ammoniumacetat i vatten (fas A) och ammoniumacetat i acetonitril (fas B), vars andel justerades under analysförloppet. Masspektrometern var inställd på negativ elektroprayjonisering MRM-läge. Kvantifiering baserades på isotoputspädning (se Bilaga Tabell B2 för analyter och motsvarande isotopiskt märkta interna standarder).

För PFOS mättes den linjära isomeren (lin-PFOS) och de grenade isomererna (br-PFOS) separat. Vid analyserna användes både produktjonerna m/z 80 och m/z 90. Medelvärde av resultaten för dessa två produktjoner användes vid kvantifieringen av isomererna. Total PFOS-halt beräknades genom summering av halterna av lin- och br-PFOS.

Kvantifieringsgränserna (LOQ) sattes vid den lägsta kalibreringspunkten. Halter under LOQ rapporterade i de fall en topp hade en signal som låg >3 gånger över bakgrundsbruset (detektionsgräns, LOD). Redovisade halter under LOQ får anses vara semi-kvantitativa. Halter för analyter där kvalitetssäkringen visade på otillfredställande sensitivitet och noggrannhet får också anses vara semi-kvantitativa (Bilaga, Tabell B2). De mest osäkra resultaten (kvalitativa) förelåg för analyter där en autentisk standard saknades, eller där kvalitetssäkringen visade på dålig sensitivitet och noggrannhet trots att autentisk standard användes.

Provtagningar och analys av dricksvatten

Information om vilka vattenverk (VV) som levererade DV till deltagande skolor togs fram via skolornas hemsidor och kommunernas dricksvattenproducenter. De 47 VV som levererade DV till de deltagande skolorna kontaktades och provtagningsmaterial sändes till VV i två omgångar i maj-juni och oktober-november 2018. Vid varje tillfälle skötte personal på VV provtagningen av 1 L utgående vatten i polypropylenflaskor som sköljts 3 gånger i det utgående vattnet innan provtagning. Flaskorna förvarades i mörker vid 4 °C innan transport till POPs-laboratoriet vid Institutionen för vatten och miljö, Sveriges lantbruksuniversitet.

Totalt 26 PFAS analyserades (Bilaga, Tabell B3), inklusive C₃–C₁₃, C₁₅ och C₁₇ perfluoralkylkarboxysyror (PFCAs) (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDODA, PFTrIDA, PFTeDA, PFHxDA, PFOcDA), C₄, C₆, C₈ och C₁₀ perfluoralkylsulfonsyror (PFSA) (PFBS, PFHxS, PFOS, PFDS) och PFAS-prekursorerna metyl- och etylperfluoroktansulfonamider (FOSAs) (FOSA, MeFOSA, EtFOSA) metyl- och etylperfluoroktansulfonamidetanoler (FOSEs) (MeFOSE, EtFOSE), metyl- och etylperfluoroktansulfonamidättiksyror (FOSAAs) (FOSAA, MeFOSAA, EtFOSAA) och 6:2 fluorotelomersulfonsyra (FTSA). Följande massmärkta interna standarder (IS) inkluderades: ¹³C₄PFBA, ¹³C₂PFHxA, ¹³C₄PFOA, ¹³C₅PFNA, ¹³C₂PFDA, ¹³C₂PFUnDA, ¹³C₂PFDODA, ¹⁸O₂-PFHxS, ¹³C₄PFOS, ¹³C₈FOSA, *d*₃-MeFOSA, *d*₅-EtFOSA, *d*₇-MeFOSE, *d*₉-EtFOSE, *d*₃-MeFOSAA, and *d*₅-Et-FOSAA. PFAS-analys utfördes såsom beskrivits tidigare.¹⁹ I korthet filtrerades 500 ml vatten (1,2 µm glasfiberfilter (GFF), Whatman, UK) och sedan tillsattes 100 µL av en IS-blandning (20 ng/mL för var och en av de 16 IS). Innan extraktion med fast fas (SPE) förbehandlades patronerna (Oasis WAX-patroner, 6 cc, 500 mg, 60 µm, Waters Corporation, USA) med 4 ml 0,1% ammoniumhydroxid i metanol, 4 ml metanol och 4 ml Millipore vatten, och laddades sedan med en droppe DV-prov per sekund. Sedan rengjordes patronerna med 4 ml 25 mM ammoniumacetatbuffertlösning i Millipore-vatten och torkades med hjälp av centrifugering. Därefter eluerades patronerna med 4 ml metanol och 8 ml 0,1% ammoniumhydroxidlösning i metanol. Slutligen koncentrerades extrakten till 1 ml. Analysen utfördes i ett DIONEX UltiMate 3000 ultrahögtryck vätskekromatografisystem (UPLC) (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) kopplat till en trippel quadrupol-masspektrometer (MS/MS) (TSQ QUANTIVA, Thermo SCIENTIFIC, Waltham, MA, USA). En Acquity UPLC BEH-C18-kolonn (100 mm x 2,1 i.d., 1,7 µm partikelstorlek från Waters Corporation, Manchester, UK) användes som analytisk kolonn. Internkalibrering användes för kvantifiering.

För kvalitetskontroll utvärderades laboratorieblankar ($n = 10$), kvantifieringsgränser (LOQ), duplikatprover ($n = 8$) och matrisspikade standarder (MST) för DV ($n = 4$). Kvalitetskontrollproven bestående av MST och blankprover extraherades på samma sätt som DV-proverna. Utbyten av de enskilda PFAS beräknades från MST ($n=4$) och varierade mellan 60 % och 140 %. Blankproverna visade spår av PFAS-kontaminering för PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA och 6:2 FTSA, med maximala genomsnittliga koncentrationer av $<0,72$ ng/L (PFPeA). De andra PFAS upptäcktes inte i blankproverna. LOQ beräknades som halva halten av den lägsta punkten på kalibreringskurvan, vid vilken den relativa standardavvikelsen av medelvärdet för responsfaktorerna var 30 %. Topparean motsvarande denna koncentration användes för att beräkna LOQ för varje enskild PFAS i de individuella proverna. LOQ för enskilda PFAS varierade mellan 0,06 ng/L och 7,2 ng/L maj-juni och mellan 0,05 ng/L och 0,43 ng/L oktober-november. LOQ varierade på grund av variation av analysinstrumentets känslighet mellan olika analysbatcher.

Statistisk analys

Sammanlagt 1097 deltagare hade registrerat livsmedelskonsumtion, fyllt i enkäter och fått PFAS analyserat i serum (Tabell 1). Ett bortfall av deltagare skedde på grund av att de bodde i områden som inte fick DV från de deltagande VV. Totalt 882 deltagare hade DV från deltagande VV både i skolan och bostaden. Området där bostaden låg identifierades med hjälp av postnumret och information om vilka VV levererade till bostäderna erhöles från kontaktpersonerna på VV och från dricksvattenleverantörernas hemsidor.

I den statistiska analysen sattes gränsen för statistiskt säkerställd signifikans till $p \leq 0,05$. I analyserna användes haltdata för serum som låg under LOQ men över LOD. Detta för att minska skevheten av distributionen av uppmätta PFAS-halter. Halter under LOD sattes till $\text{LOD}/\sqrt{2}$. I de fall LOD inte kunde bestämmas sattes halter $< \text{LOQ}$ till den lägsta rapporterade LOQ för ämnet i fråga. Sambanden mellan PFAS-halter i blod och DV studerades endast för PFAS som hade detekterbara halter i DV och för vilka >80 % av deltagarna hade detekterbara halter, det vill säga PFOA, PFNA, PFHxS och PFOS. Eventuella skillnader i halt av PFAS i DV mellan vår och höst undersöktes med ett parvis T-test. Testet gjordes på VV som hade mätbara halter av de enskilda PFAS både på våren och hösten.

I beräkningen av medelhalten av PFAS i deltagarnas DV sattes halter under LOQ till $\frac{1}{2}\text{LOQ}$. I de fall flera VV levererade DV till deltagares skola och hem, och alla VV hade halter $< \text{LOQ}$, sattes medelhalten till $< \text{LOQ}$. Deltagande elever grupperades i tre kategorier baserat på medelhalten i DV som levererats till skolan och bostaden (medelhalt av vår och

höstprovtagning). Medelhalten användes för att bättre representera den långsiktiga PFAS-exponeringen från DV. Elever som fick vatten med en slutlig medelhalt <LOQ placerades i dricksvattenskategorin med lägst PFAS-halt (<LOQ) (Tabell 2). De två övriga kategorierna delades upp så att antalet deltagare blev så jämna som möjligt.

Tabell 2. Indelning av RMU-deltagarna i olika grupper baserat på medelhalten av PFAS (ng/L) i dricksvattnet (DV) som levererades till deras skolor och hem.^a

PFAS	n _{vattenverk}	Haltkategorier dricksvatten	n _{deltagare} ^a	Median ^b	Min – max
PFOA	15	<LOQ	149	<LOQ	<LOQ
	16	>LOQ till ≤ 0,50	347	0,23	0,025 – 0,48
	16	>0,50	310	0,72	0,52 – 1,8
PFNA	25	<LOQ	279	<LOQ	<LOQ
	11	>LOQ till ≤ 0,16	275	0,11	0,092 – 0,15
	11	>0,16	253	0,26	0,17 – 0,32
PFHxS	25	<LOQ	271	<LOQ	<LOQ
	11	>LOQ till ≤ 0,45	263	0,20	0,11 – 0,42
	11	>0,45	268	0,74	0,47 – 6,8
PFOS	40	<LOQ	629	<LOQ	<LOQ
	4	>LOQ till ≤ 1,8	113	1,4	1,2 – 1,8
	3	>1,8	62	2,3	2,2 – 3,6

^aAntalet RMU-deltagare i de olika kategorierna baseras på antalet som inkluderades i de slutliga GLM-analyserna av samband mellan PFAS-halt i serum och DV.

^bMedelhalt av PFAS i DV som levererats både till deltagarnas skola och hem.

Sambanden mellan halterna av PFAS i serum och DV analyserades med hjälp av log-linjär multipel regression. Justerade geometriska medelvärden togs fram med hjälp av General Linear Model (GLM)-analys. Den naturliga logaritmen av PFAS-halterna i serum användes vid den statistiska analysen, eftersom haltdata hade en log-normal fördelning. GLM-analysen inkluderade i ett första steg alla deltagare. Deltagare med en standardiserad residual >3 i den inledande GLM-analysen exkluderades i ett andra analyssteg från GLM-analysen, på grund av en stor påverkan på resultatet (avvikare). I en ”känslighetsanalys” exkluderades deltagare som bodde i områden med kända exponeringar för höga PFAS-halter via DV fram till 2012-13 (Uppsala och Ronneby).

Sambanden mellan PFAS-halt i blodserum och dricksvatten analyserades först i en univariat modell med endast PFAS-halt i serum som beroende variabel och halt i dricksvatten som oberoende variabel. Sambanden kan dock påverkas av så kallade störfaktorer. Därför ”justerades” sambanden för potentiella störfaktorer genom att följande co-variater inkluderades i regressionsmodellerna: deltagarens födelseland, ålder, vikt, längd, rökvanor, snusning, konsumtion av fisk och skaldjur, blodförlust på grund av menstruation (flickor), och

amning under spädbarnstiden. Dessutom inkluderades variablerna 'mamma och pappas födelseland' och högsta utbildning. För en beskrivning av kategorisering se Tabell 1.

Ålder, vikt, längd, rökvanor, snusning och amning ingick i analysen eftersom tidigare studier har observerat associationer mellan i PFAS-halter bland barn/ungdomar och dessa variabler.^{15, 20-22} Deltagarens födelseland inkluderades eftersom den kumulativa PFAS-exponeringen innan provtagning kan ha påverkats om deltagaren vuxit upp i ett annat land än Sverige.^{23, 24} Det kan antas att deltagarnas PFAS-exponering också kan påverkas av livsstilsskillnader beroende på var föräldrarna är födda. Världsbankens klassificering av länder enligt inkomstnivå²⁵ användes för att klassificera deltagarnas födelseland, och mammorna och pappornas födelseland (Tabell 1).

Konsumtion av fisk och skaldjur är en viktig exponeringskälla för vissa PFAS.²⁶ Fiskkonsumtionen beräknades med hjälp av deltagarnas svar på frekvensfrågor om konsumtion av olika sorters fisk de senaste 12 månaderna (fiskpinnar/bullar, mager havsfisk, sill/makrill, laxfiskar, sardiner/sardeller/ansjovis, strömming, sötvattensfisk, stora marina rovfiskar, tonfisk på burk, krabba, andra skaldjur). I frekvensfrågorna användes följande frekvenser: aldrig, 1-2, 4-8 och 9-11 portioner per år, 1-3 portioner per månad, 1, 2 och 3 portioner per vecka, >1 portion per dag. Ålders- och könsspecifika portionsstorlekar, som uppskattats från registreringen i RiksmatenFlex, användes för att räkna om frekvenssvaren till en total konsumtion av fisk och skaldjur (gram/dag).

Blodförlust via till exempel menstruation har visat sig vara en möjlig elimineringsväg för vissa PFAS.^{27, 28} De deltagande flickorna/unga kvinnorna som rapporterat att de inte börjat menstruera grupperades i detta fall ihop med pojkarna/de unga männen.

Den statistiska analysen av samband mellan serum- och DV-halt av "extra target list-PFAS" (Bilaga Tabell B4) fokuserades på PFAS som rapporterats ligga över LOD i mer än 20 deltagare. Två typer av analyser gjordes. En analys undersökte om det fanns skillnader i serumhalter mellan deltagare från de skolor som ligger i områden som haft en känd historisk förhöjd PFAS-kontaminering (Uppsala och Ronneby) och övriga deltagare. För PFAS där data fanns för både serum och DV (6:2 FTSA) delades deltagarna in i 3 grupper, där en grupp omfattade skolor som fick DV med halter av 6:2 FTSA under MLD i alla prover, en grupp där minst ett prov hade en halt som låg över LOQ men under 1 ng/L och en grupp där minst ett prov hade en halt över 1 ng/L. I båda dessa analyser användes det icke-parametriska testet Mann-Whitney U test.

Tabell 3. Halter av PFAS i dricksvatten från de vattenverk som levererade dricksvatten till deltagande skolor i RMU.

PFAS	<LOQ (ng/L); N Vår	≥LOQ (ng/L); N	<LOQ (ng/L); N Höst	≥LOQ (ng/L); N
PFBA	3,0-9,7; 39	3,5-22; 6	0,76-3,7; 40	1,6-2,8; 2
PFPeA	5,6-55; 44	18; 1	0,59-2,9; 41	0,78; 1
PFHxA	1,0-16; 45		0,074-1,8; 36	0,4-3,7; 5
PFHpA	0,21-2,1; 42	1,2-2,1; 2	0,068-0,37; 35	0,46-1,6; 7
PFOA	0,086-0,42; 13	0,13-1,9; 31	0,074-0,98; 31	0,47-2,5; 11
PFNA	0,031-0,22; 25	0,11-0,37; 20	0,066-0,19; 36	0,21-0,32; 6
PFDA	0,039-0,13; 45		0,077-0,18; 42	
PFUnDA	0,031-0,17; 45		0,083-0,28; 42	
PFDoDA	0,053-0,63; 45		0,080-8,4; 42	
PFTriDA	0,064-0,69; 45		0,092-52; 41	0,56; 1
PFTeDA	0,064-1,9; 45		0,33-11; 42	
PFHxDA	0,073-4,5; 45		0,35-27; 42	
PFOcDA	0,060-110; 45		0,13-110; 41	0,18; 1
PFBS	0,19-4,3; 35	0,25-2,9; 10	0,075-2,4; 27	0,094-3,1; 14
PFHxS	0,040-0,20; 25	0,19-7,9; 20	0,057-7,5; 21	0,14-5,9; 13
PFOS	0,31-1,9; 39	1,1-4,2; 6	0,059-2,8; 35	0,91-3,0; 7
PFDS	0,21-1,6; 45		0,40-2,0; 42	
6:2 FTSA	0,026-0,078; 40	2,6-17; 5	0,021-0,13; 16	0,046-1,4; 26
8:2 FTSA	0,13-1,0; 45		0,29-0,80; 42	
10:2 FTSA	0,052-0,24; 45		0,17-1,0; 42	
FOSA	0,018-1,2; 15	0,20-4,1; 30	0,16-3,7; 22	0,18-3,7; 20
FOSAA	0,014-0,12; 45		0,15-3,5; 42	
Me-FOSAA	0,027-0,17; 45		0,10-0,29; 42	
Et-FOSAA	0,020-0,19; 45		0,072-0,23; 42	
Σ11PFAS		0,78 (0-38)		0,49 (0-6,2)
ΣPFAS		1,7 (0-38)		1,2 (0-6,2)

Kolumnen märkt <LOQ redovisar kvantifieringsgränsen för PFAS och antalet vattenverk som hade halter <LOQ. Kolumnen märkt ≥LOQ redovisar halter i de prover där PFAS kunde detekteras och antal vattenverk med halter över LOQ. Halten av summa11PFAS och totalPFAS beräknades genom att halter <LOQ sattes till 0 och presenteras som median (min-max).

Resultat och diskussion

PFAS-koncentrationer i dricksvatten

PFOA var den PFAS som detekterades i flest prover under vår/försommar, medan PFBA och 6:2 FTSA förelåg i högst koncentrationer (maxhalt >10 ng/L) (Tabell 3). Under hösten detekterades 6:2 FTSA i flest prover, men inget VV hade halter av enskilda PFAS över 10 ng/L (Tabell 3). Summahalt av de 11 PFAS som ingår i Livsmedelsverkets åtgärdsgräns (90 ng/L) varierade mellan 0 och 38 ng/L på våren/försommaren och mellan 0 och 6,2 ng/L under hösten. LOQ varierade mellan enskilda VV-prover vilket försvårar jämförelser av halter mellan vår/försommar och höst. En statistisk analys av eventuella skillnader i PFAS-halter mellan vår och höst gav dock vid handen att halten av PFHxS (N=11), PFOA (N=10), PFNA (N=4) och 6:2 FTSA (N=5) inte skiljde sig åt, medan halterna av PFOS (N=5; p=0,025) och

FOSA (N=15; p=0,016) var lägre på hösten än på våren. Medelskillnaden för PFOS var 0,92 ng/L (standardavvikelse: 0,71 ng/L) och för FOSA 0,50 ng/L (0,70 ng/L). I vissa fall är jämförelserna osäkra på grund av få VV med mätbara halter både höst och vår. De uppmätta halterna ligger inom de haltintervall som rapporterats i tidigare gjorda screeningar av rå- och dricksvatten i Sverige, men var klart lägre än de högsta halterna som observerats i tidigare studier.^{19, 29}

De PFAS som ingår i Livsmedelsverkets åtgärdsgräns är PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFBS, PFHxS, PFOS och 6:2 FTSA.³⁰ Förutom dessa PFAS detekterades PFTriDA, PFOcDA, och FOSA i DV från deltagande VV. Speciellt FOSA detekterades i ett stort antal prover, och det bör därför utredas om denna PFAS också ska ingå i Livsmedelsverkets åtgärdsgräns.

Tabell 4. PFAS-halter i serum från deltagarna i RMU. DF= detektionsfrekvens.

	Alla (n=1097) Median (range) (ng/g serum)	DF %	Pojkar (n=481) Median (range) (ng/g serum)	DF %	Flickor (n=616) Median (range) (ng/g serum)	DF %
PFCAs^a						
PFHxA ^c	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0
PFHpA	<LOD (<LOD-0,604)	11,4	<LOD (<LOD-0,245)	9,98	<LOD (<LOD - 0,604)	12,5
lin-PFOA	1,20 (<LOD-9,75)	99,9	1,28 (0,230 - 9,75)	100	1,15 (<LOD - 7,15)	99,8
br-PFOA ^c	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0
PFNA	0,382 (<LOD-2,80)	95,1	0,405 (<LOD - 2,80)	96,3	0,357 (<LOD - 1,75)	94,6
PFDA	0,162 (<LOD-1,35)	80,3	0,173 (<LOD - 1,35)	80,0	0,154 (<LOD - 1,35)	80,5
PFUnDA	0,0970 (<LOD-1,01)	69,4	0,0970 (<LOD - 1,01)	70,1	0,0960 (<LOD - 0,862)	68,8
PFDoDA	<LOD (<LOD-0,151)	8,48	<LOD (<LOD - 0,151)	8,52	<LOD (<LOD - 0,149)	8,44
PFTriDA	<LOD (<LOD-0,168)	8,39	<LOD (<LOD - 0,120)	9,15	<LOD (<LOD - 0,168)	7,79
PFTeDA	<LOD (<LOD-0,136)	0,27	<LOD (<LOD - 0,136)	0,42	<LOD (<LOD - 0,0790)	0,16
PFPeDA	<LOD (<LOD-0,359)	0,36	<LOD (<LOD - 0,359)	0,42	<LOD (<LOD - 0,0390)	0,32
PFSAs^b						
PFBS ^c	<LOD (<LOD - 2,69)	17,8	<LOD (<LOD - 2,69)	16,2	<LOD (<LOD - 1,68)	19,2
lin-PFHxS	0,399 (<LOD - 255)	99,3	0,462 (0,0470 - 255)	100	0,361 (<LOD - 106)	98,7
br-PFHxS	<LOD (<LOD - 3,74)	9,34	<LOD (<LOD - 3,74)	12,1	<LOD (<LOD - 2,44)	7,31
lin-PFOS	2,00 (0,281 - 127)	100	2,23 (0,281 - 127)	100	1,83 (0,281 - 54,7)	100
br-PFOS	0,927 (0,031 - 110)	100	1,07 (0,162 - 110)	100	0,820 (0,0310 - 51,3)	100
Tot-PFOS	2,20 (0,132 - 237)	100	3,35 (0,443 - 237)	100	2,65 (0,312 - 106)	100
lin-PFDS	<LOD	0	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0
br-PFDS	<LOD	0	<LOD (<LOD)	0	<LOD (<LOD)	0
lin-FOSA	<LOD (<LOD - 0,0390)	0,73	<LOD (<LOD-0,0180)	0,42	<LOD (<LOD - 0,0390)	0,97
br-FOSA	<LOD	0	<LOD	0	<LOD (<LOD)	0

^aPFCAs detektionsgräns (LOD) för de PFCAs som detekterats; PFHpA: 0,020 - 0,103 ng/g serum; l-PFOA: 0,287 ng/g serum; PFNA: 0,103 - 0,176 ng/g serum; PFDA: 0,028 - 0,099 ng/g serum; PFUnDA: 0,020 - 0,119 ng/g serum; PFDoDA: 0,014 - 0,080 ng/g serum; PFTriDA: 0,008 - 0,155 ng/g serum; PFTeDA: 0,043 - 0,079 ng/g serum; PFPeDA: 0,025 ng/g serum.

^bPFSAs detektionsgräns (LOD) för de PFSAs som detekterats; PFBS: 0,019 - 2,686 ng/g serum; l-PFHxS: 0,017 - 0,216 ng/g serum; br-PFHxS: 0,010 - 0,053 ng/g serum; l-PFOS 80: 0,484 - 0,505 ng/g serum; br-PFOS 80: 0,047 - 0,437 ng/g serum; br-PFOS 99: 0,012 - 0,148 ng/g serum; l-FOSA: 0,005 - 0,039 ng/g serum.

PFAS-koncentrationer i serum

Serum är i de flesta fallen en bra matris för blodmätningar av de PFAS som inkluderats i denna studie, eftersom många PFAS främst distribueras till serum/plasma i blod på grund av stark bindning till serum/plasmaproteiner såsom albumin.³¹ Ett undantag finns bland PFCA,

där PFHxA bör mätas i helblod eftersom denna PFAS mest distribueras till de röda blodkropparna istället för serum/plasma.³¹ Bland PFCA låg därför serumhalterna av PFHxA under LOD i alla prover (Tabell 4). Halterna av PFHpA, br-PFOA, PFDoDA, PFTrIDA, PFTeDA och PFPeDA låg också under LOD i mer än 80 % av fallen (Tabell 4), trots att de i hög grad distribueras till serum.³¹ l-PFOA hade högst medianhalt (>1 ng/ml serum), och medianhalterna av PFCA med fler än 7 kol i alkylkedjan var <1 ng/L och minskade med ökad kedjelängd. Halterna av enskilda PFCA låg aldrig över 10 ng/ml (Tabell 4). De observerade medianhalterna ligger i nivå med de som rapporterats för barn från Uppsala¹⁵ och i nivå eller lite lägre än de som rapporterats för ungdomar (15-19 år) från Tromsø, Norge.²² En skola från Ronneby deltog i RMU och de högsta halterna av PFOA bland RMU-ungdomarna låg i nivå med halter som uppmätts i just Ronneby bland 11-åringar som exponerats för PFOA via DV (Tabell 5).³² När föroreningen av DV upptäcktes 2013 låg halterna av PFOA i DV på cirka 100 ng/L.⁸

l-PFOS uppvisade den högsta medianhalten bland PFSA (>1 ng/ml) följt av br-PFOS och l-PFHxS (Tabell 4). Medianhalterna var något lägre än de som rapporterats från Uppsala och Tromsø.^{15, 22} Mer än 80 % av deltagarna hade halter av PFBS, br-PFHxS, l-PFDS och br-PFDS som var <LOD. Höga serumhalter av l-PFHxS, br-PFOS och l-PFOS (>100 ng/ml serum) observerades i enstaka individer från Ronneby (Tabell 5), i nivå med de som tidigare rapporterats från Ronneby bland barn exponerats för stark förorenat DV (PFOS och PFHxS >1000 ng/L).³²

Tabell 5. PFAS-halter (ng/g serum) bland deltagare i RMU från Uppsala och Ronneby. Tabellen redovisar data för de PFAS som inkluderades i analyserna av associationer mellan PFAS i serum och dricksvatten.

PFAS	Alla (n=1097) Median (min-max)	Uppsala (n=18)	Ronneby (n=24)
lin PFOA	1,20 (<LOD-9,75)	1,80 (1,01 – 3,35)	2,40 (0,608 – 9,75)
PFNA	0,382 (<LOD-2,80)	0,451 (0,239-1,77)	0,350 (<LOD – 0,606)
lin PFHxS	0,399 (<LOD - 255)	9,14 (4,23 – 23,7)	27,7 (0,200 – 255)
Tot-PFOS	2,20 (0,132 - 237)	4,32 (2,53 – 10,2)	34,3 (1,70 – 237)

Halterna av PFAS prekursorer och nya PFAS substanser som ingick i ”extra target list” var i de flesta fallen mycket låga, med några få undantag (Bilaga, Tabell B4). PFPeS, PFHpS, l-MeFOSAA, 9Cl-PF3ONS och 6:2 FTSA var de PFAS som detekterades i mer än 20 prover. Resultaten för PFPeS och PFHpS är osäkra eftersom det vid analystillfället ännu inte fanns några autentiska standarder för dessa PFAS. Även resultaten för 6:2 FTSA får anses vara

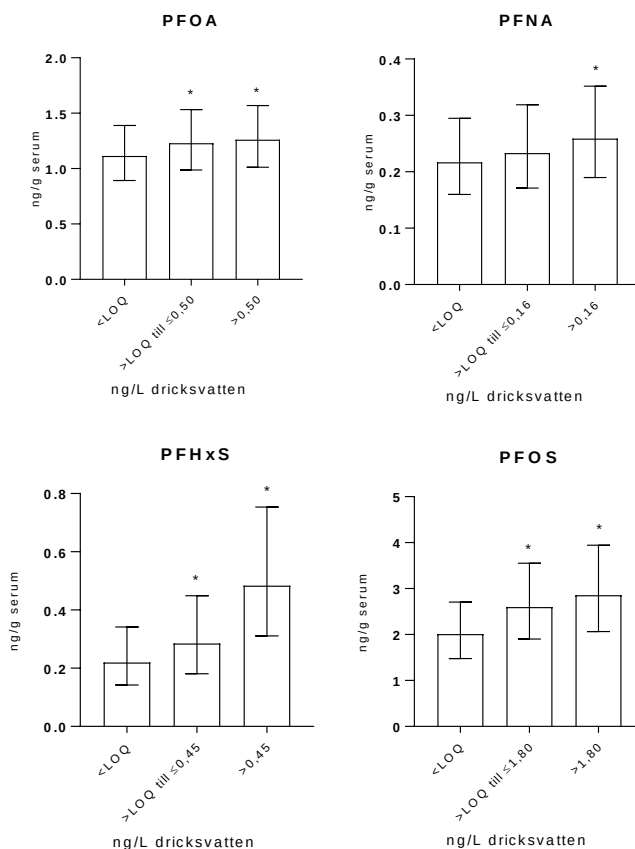
osäkra, trots att autentisk standard fanns tillgänglig, eftersom precision och noggrannhet inte var tillfredställande. För l-MeFOSAA och 9Cl-PF3ONS fanns det autentiska standarder och precision/noggrannhet var tillfredställande, varför resultaten får anses vara av tillfredställande kvalitet. Förekomst av PFPeS och PFHpS har tidigare rapporterats bland allmänbefolkning och brandmän i Australien.³³ En studie från Kina rapporterade att 6:2 FTSA var en av de PFAS som detekterades i högst halter i serum från allmänbefolkningen.³⁴ Bland förstföderskor från Uppsala var medelhalterna av denna PFAS låga (<0,1 ng/g) och halterna visade en nedåtgående trend mellan 1996 och 2017.³⁵ MeFOSAA har detekterats i serum/plasma från allmänbefolkningen i bland annat Nordamerika och Europa.^{36, 37} En snabbt minskande trend av MeFOSAA observerades mellan 1997-2012 i serum från förstföderskor i Uppsala, vilket visar att exponeringen minskat kraftigt under de senaste årtiondena.³⁸ Att 9Cl-PF3ONS (viktig komponent i F-53 B) observerades i mätbara halter bland RMU-deltagarna är överraskande eftersom det hittills har rapporterats att substansen endast används i Kina.³⁹ En studie från USA kunde inte detektera 9Cl-PF3ONS i serum från allmänbefolkningen i USA (LOD 0,1 ng/mL).⁴⁰ Substansen har dock detekterats i enstaka samlingsprover från förstföderskor i Uppsala.³⁵ Substansen har också detekterats i reningsverksutsläpp i Australien.³⁹ Bland ungdomarna i RMU detekterades 9Cl-PF3ONS i 60 deltagare (5,4 %) med halter upp till 1 ng/mL (Bilaga, Tabell B4).

Tabell 6. Univariata samband mellan PFAS-halter i serum och dricksvatten. Lutningskoefficienten (β -koef.) anger % skillnad i serumhalt mellan referensgruppen med lägst PFAS-halt i dricksvattnet och de andra grupperna med högre halt. SE=standard error.

PFAS	n	Kategorier (ng/L)	B-koef. (%)	SE (%)	p-value
PFOA	866	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,50$	8,33	3,87	0,032
		>0,50	13,26	3,93	0,001
PFNA	868	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,16$	6,84	4,65	0,141
		>0,16	22,8	4,79	0,000
PFHxS	864	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,45$	24,8	6,83	0,000
		>0,45	89,2	13,2	0,000
PFOS	867	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 1,80$	28,3	5,73	0,000
		>1,80	51,1	7,47	0,000

Samband mellan PFAS-halter i serum och dricksvatten

Den univariata GLM-analysen visade att RMU-deltagare med en högre PFAS-halt i DV än referensgruppen hade ett signifikant högre geometriskt medelvärde av PFAS i serum, förutom för PFNA där endast medelhalten i gruppen med högst DV-halt var signifikant skild från referensgruppen (Tabell 6). Resultaten ändrades inte nämnvärt när GLM-modellerna inkluderade potentiella störfaktorer (Fig. 1, Tabell 7). Deltagarna i gruppen med de högsta PFOA-halterna i dricksvattnet hade i medeltal 12 % högre serumhalt av PFOA än deltagare i referensgruppen med de lägsta DV-halterna (Tabell 7). Motsvarande skillnader för PFNA, PFHxS och PFOS var 17 %, 79 % och 35 %. Mellan 75 och 80 deltagare föll bort i GLM-analysen på grund av att data saknades för enskilda co-variater, eller på grund av att data klassades som avvikande i den statistiska analysen.



Figur 1. Justerade geometriska medelvärden (standard error) av PFAS-halter i serum bland deltagare i RMU som fått dricksvatten från deltagande vattenverk både i skolan och hemma. Medelvärden beräknades i en GLM-analys där följande co-variater inkluderades i GLM-modellerna: deltagarens födelseland, ålder, vikt, längd, rökvanor, snusning, konsumtion av fisk och skaldjur, blodförlust på grund av menstruation, amning under spädbarnstiden, och mamma och pappas födelseland och högsta utbildning. Vissa deltagare föll bort ur analysen på grund av att data för enskilda co-variater saknades, och deltagare med standardiserad residual >3 efter en första omgång av GLM-analys togs bort från datasetet på grund av stark påverkan av resultatet (avvikare). * $p \leq 0,05$ i förhållande till referensgruppen med de lägsta halterna (<LOQ) av PFAS i dricksvattnet (n=802-807).

Tabell 7. Samband mellan PFAS-halter i serum och dricksvatten. Lutningskoefficienten (β -koef.) anger % skillnad i serumhalt mellan referensgruppen med lägst PFAS-halt i dricksvattnet och de andra grupperna med högre halt.

PFAS	n	Kategorier (ng/L)	β koef. (%) ^a	SE (%)	P
PFOA	806	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,50$	9,92	3,95	0,012
		>0,50	12,3	4,04	0,002
PFNA	807	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,16$	7,16	4,89	0,144
		>0,16	17,5	4,87	0,000
PFHxS	802	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 0,45$	26,0	6,94	0,000
		>0,45	78,8	7,06	0,000
PFOS	804	<LOQ	Ref.	-	-
		>LOQ till $\leq 1,8$	25,7	5,57	0,000
		>1,8	35,2	7,45	0,000

^aJusterat geometriskt medelvärde, standard error (SE). Följande co-variater inkluderades i GLM-modellerna: deltagarens födelseland, ålder, vikt, längd, rökvanor, snusning, konsumtion av fisk och skaldjur, blodförlust på grund av menstruation, amning under spädbarnstiden, och mamma och pappas födelseland och högsta utbildning. Vissa deltagare föll bort ur analysen på grund av att data för enskilda co-variater saknades, och deltagare med standardiserad residual >3 i en första omgång GLM-analys togs bort på grund av stark påverkan av resultatet.

I sensitivitetsanalysen exkluderades deltagare från Uppsala och Ronneby kommun från GLM-analysen på grund av misstänkt historisk exponering för höga PFAS-halter i dricksvattnet innan 2012-13 (Tabell 8). I denna analys minskade skillnaderna mellan referensgruppen och mellangruppen för PFOA och PFOS, och skillnaden var inte längre statistiskt säkerställd.

Tabell 8. Samband mellan PFAS-halter i serum och dricksvatten. Lutningskoefficienten (β koef.) anger % skillnad i serumhalt (justerat geometriskt medelvärde, standard error (SE)) mellan referensgruppen med lägst PFAS-halt i dricksvattnet och de andra grupperna med högre halt. I denna analys togs deltagare från Uppsala (N=18) och Ronneby (N=24) bort.

PFAS	Kategorier (ng/L)	β koef. (%)	β -SE (%)	p-value
PFOA	<LOQ	Ref.	-	-
	>LOQ till $\leq 0,50$	5,41	3,90	0,165
	>0,50	12,6	3,92	0,001
PFNA	<LOQ	Ref.	-	-
	>LOQ till $\leq 0,16$	10,1	4,90	0,410
	>0,16	22,4	4,94	0,000
PFHxS	<LOQ	Ref.	-	-
	>LOQ till $\leq 0,45$	30,5	5,23	0,000
	>0,45	66,4	6,77	0,000
PFOS	<LOQ	Ref.	-	-
	>LOQ till $\leq 1,8$	-7,40	10,1	0,465
	>1,8	40,6	4,85	0,000

Följande co-variater inkluderades i GLM-modellerna: deltagarens födelseland, ålder, vikt, längd, rökvanor, snusning, konsumtion av fisk och skaldjur, blodförlust på grund av menstruation, modersmjölkskonsumtion under spädbarnstiden och mamma och pappas födelseland och högsta utbildning. Deltagare med standardiserad residual >3 togs bort i GLM-analysen.

Eftersom inget VV hade medelhalter av PFOA, PFNA, PFHxS och PFOS i DV som var högre än 7 ng/L (Tabell 3), antyder resultaten ändå att dricksvatten med bakgrundshalter av PFAS (<10 ng/L av enskilda PFAS) är en viktig källa för PFOA-, PFNA-, PFHxS- och PFOS-exponering bland ungdomar i Sverige. Skillnaderna i serumhalter var störst för PFHxS, vilket sannolikt beror på att livsmedel innehåller mycket låga halter i jämförelse med PFOA, PFOS och PFNA.⁴¹ Därmed slår exponeringen från DV igenom kraftigare för PFHxS än för de andra PFAS.

Trots de osäkra resultaten för många av PFAS i "extra target list" (Bilaga, Tabell B4) så observerades statistiskt säkerställda högre halter av PFPeS och PFHpS bland barn/ungdomar boende i Uppsala och Ronneby jämfört med deltagarna från övriga delar av landet (Tabell 9). Detta antyder att dessa två PFAS fanns med som kontaminanter i DV innan 2012-13 då föroreningarna åtgärdades i Uppsala och Ronneby. PFPeS och PFHpS har inte rutinmässigt analyserats i dricksvatten, men våra resultat antyder att det bör göras i framtiden.

Tabell 9. Jämförelser av PFAS-halter i serum (median (min-max)), uppmätta i "extra target-analysen", mellan deltagare från områden med bakgrundshalter i dricksvatten och områden med en känd historisk PFAS-kontaminering av dricksvattnet över bakgrund (Uppsala och Ronneby).

Substans	Bakgrund	Uppsala	Ronneby
PFPeS	<LOD (<LOD-0,19) (803)	0,20 (<LOD-0,58) (N=14)*	0,053 (<LOD-1,9)* (N=34)
PFHpS	<LOD (<LOD-0,48) (1066)	0,022 (<LOD-0,30) (N=18)*	1,1 (<LOD-5,8)* (N=23)
lin MeFOSAA	<LOD (<LOD-6,0) (1066)	<LOD (<LOD-0,17) (N=18)	<LOD (<LOD-0,076) (N=23)
9Cl-PF3ONS	<LOD (<LOD-1,2) (1066)	<LOD (<LOD) (N=18)	<LOD (<LOD) (N=41)
6:2 FTSA	<LOD (<LOD-150) (545)	<LOD (<LOD) (N=9)	<LOD (<LOD) (N=13)

LOD=detektionsgräns. De rapporterade halterna är i många fall osäkra. Resultat för PFAS som detekterats i mer än 20 prover rapporteras i tabellen. *Signifikant högre än gruppen 0 (Mann-Whitney U test, $p \leq 0,05$)

6:2 PTSA detekterades frekvent i DV (Tabell 3). I analysen av samband mellan blodhalter och DV-halter av denna PFAS observerades inget statistiskt säkerställt samband (resultaten visas ej). Detta beror sannolikt på att resultaten för serum var osäkra, att denna PFAS hade låg detektionsfrekvens i serum, och att provtagningen av dricksvatten skedde ett par år efter provtagningen av serum.

Styrkor, svagheter och slutsatser

Det stora deltagarantalet i studien är en fördel, eftersom det ger en bra statistisk styrka att detektera relativt svaga samband mellan PFAS-halt i serum och DV. Studien omfattade ett nationellt representativt urval av ungdomar och täckte en stor del av landet. PFAS-halten i DV analyserades vid 2 tillfällen vilket ger en bättre bild av den långsiktiga halten än ett enstaka

prov. God information fanns tillgänglig om demografiska faktorer, fiskkonsumtion, livsstilsfaktorer och medicinska faktorer som kan tänkas påverka resultaten.

Detektionsgränsen för vissa PFAS i dricksvatten var relativt hög, och varierade mellan VV och provtagningstillfällen, vilket ökar resultatens osäkerhet. DV-proverna togs också något år efter att blodprovet togs vilket också bidrar till osäkerheten. Vi hade inte information om ungdomarnas konsumtion av dricksvatten. Dessutom saknade vi information om deltagarnas vistelseorter tillbaka i tiden.

Vissa deltagare från Uppsala och Ronneby hade med stor säkerhet exponerats för mycket högre PFAS-halter i dricksvattnet innan 2012-13 än var fallet vid blodprovstagningen. Sensitivitetsanalysen, där deltagarna från Uppsala och Ronneby exkluderades, förändrade dock inte slutsatsen att DV med bakgrundshalter av PFOA, PFNA, PFHxS och PFOS är en viktig exponeringskälla för ungdomar i Sverige.

Tack

Ett särskilt tack till ungdomarna i RMU för deltagande. Personal från Livsmedelsverket, AMM-kliniker, deltagande skolor och vattenverk tackas för ovärderlig praktisk hjälp. Ett stort tack även till Kyra Spaan, Nathan Charlton, Deborah Nunoo, Lena Rehl, Erik Gunnars och Foon Yin-Lai för hjälp med provupparbetning, analys och bearbetning av data. Studien finansierades av Naturvårdsverkets hälsorelaterade miljöövervakning, Livsmedelsverket och MSB.

Referenser

1. Skaar, J. S.; Raeder, E. M.; Lyche, J. L.; Ahrens, L.; Kallenborn, R., Elucidation of contamination sources for poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) on Svalbard (Norwegian Arctic). *Environ Sci Pollut Res Int* **2018**.
2. Ahrens, L.; Bundschuh, M., Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ Toxicol Chem* **2014**, *33*, (9), 1921-9.
3. Routti, H.; Krafft, B. A.; Herzke, D.; Eisert, R.; Oftedal, O., Perfluoroalkyl substances detected in the world's southernmost marine mammal, the Weddell seal (*Leptonychotes weddellii*). *Environ Pollut* **2015**, *197*, 62-67.
4. Vestergren, R.; Berger, U.; Glynn, A.; Cousins, I. T., Dietary exposure to perfluoroalkyl acids for the Swedish population in 1999, 2005 and 2010. *Environ Int* **2012**, *49*, 120-7.
5. Gebbink, W. A.; Berger, U.; Cousins, I. T., Estimating human exposure to PFOS isomers and PFCA homologues: the relative importance of direct and indirect (precursor) exposure. *Environ Int* **2015**, *74*, 160-9.
6. Sjogren, P.; Montse, R.; Lampa, E.; Salihovic, S.; van Bavel, B.; Lind, L.; Lind, P. M., Circulating levels of perfluoroalkyl substances are associated with dietary patterns - A cross sectional study in elderly Swedish men and women. *Environ Res* **2016**, *150*, 59-65.
7. Gyllenhammar, I.; Berger, U.; Sundstrom, M.; McCleaf, P.; Euren, K.; Eriksson, S.; Ahlgren, S.; Lignell, S.; Aune, M.; Kotova, N.; Glynn, A., Influence of contaminated drinking water on perfluoroalkyl acid levels in human serum--A case study from Uppsala, Sweden. *Environ Res* **2015**, *140*, 673-83.
8. Li, Y.; Fletcher, T.; Mucs, D.; Scott, K.; Lindh, C. H.; Tallving, P.; Jakobsson, K., Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup Environ Med* **2018**, *75*, (1), 46-51.
9. Emmett, E. A.; Shofer, F. S.; Zhang, H.; Freeman, D.; Desai, C.; Shaw, L. M., Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources. *J Occup Environ Med* **2006**, *48*, (8), 759-70.
10. Wilhelm, M.; Kraft, M.; Rauchfuss, K.; Holzer, J., Assessment and management of the first German case of a contamination with perfluorinated compounds (PFC) in the Region Sauerland, North Rhine-Westphalia. *J Toxicol Environ Health A* **2008**, *71*, (11-12), 725-33.
11. Ingelido, A. M.; Abballe, A.; Gemma, S.; Dellatte, E.; Iacovella, N.; De Angelis, G.; Zampaglioni, F.; Marra, V.; Miniero, R.; Valentini, S.; Russo, F.; Vazzoler, M.; Testai, E.; De Felip, E., Biomonitoring of perfluorinated compounds in adults exposed to contaminated drinking water in the Veneto Region, Italy. *Environ Int* **2018**, *110*, 149-159.
12. Stubleski, J.; Salihovic, S.; Lind, P. M.; Lind, L.; Dunder, L.; McCleaf, P.; Euren, K.; Ahrens, L.; Svartengren, M.; van Bavel, B.; Karrman, A., The effect of drinking water contaminated with perfluoroalkyl substances on a 10-year longitudinal trend of plasma levels in an elderly Uppsala cohort. *Environ Res* **2017**, *159*, 95-102.
13. Wilhelm, M.; Holzer, J.; Dobler, L.; Rauchfuss, K.; Midasch, O.; Kraft, M.; Angerer, J.; Wiesmuller, G., Preliminary observations on perfluorinated compounds in plasma samples (1977-2004) of young German adults from an area with perfluorooctanoate-contaminated drinking water. *Int J Hyg Environ Health* **2009**, *212*, (2), 142-5.
14. Glynn, A., Perfluorinated alkyl acids (PFAA) in Uppsala drinking water (in Swedish). https://www.slu.se/globalassets/nyhet-kalend/2017/pfasuppsalavattenklar_120830.pdf **2012**.
15. Gyllenhammar, I.; Benskin, J. P.; Sandblom, O.; Berger, U.; Ahrens, L.; Lignell, S.; Wiberg, K.; Glynn, A., Perfluoroalkyl Acids (PFAAs) in Children's Serum and Contribution from PFAA-Contaminated Drinking Water. *Environ Sci Technol* **2019**, *53*, (19), 11447-11457.
16. Livsmedelsverket, Riksmaten Ungdom. <https://www.livsmedelsverket.se/matvanor-halsa--miljo/kostrad-och-matvanor/matvanor---undersokningar/riksmaten-ungdom/om-riksmaten-ungdom> **2019**.
17. Moraeus, L.; Lemming, E. W.; Hursti, U. K.; Arnemo, M.; Sipinen, J. P.; Lindroos, A. K., Riksmaten Adolescents 2016-17: A national dietary survey in Sweden - design, methods, and participation. *Food Nutr Res* **2018**, *62*.
18. Powley, C. R.; George, S. W.; Ryan, T. W.; Buck, R. C., Matrix effect-free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes. *Anal Chem* **2005**, *77*, (19), 6353-8.
19. Gobelius, L.; Hedlund, J.; Durig, W.; Troger, R.; Lilja, K.; Wiberg, K.; Ahrens, L., Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Swedish Groundwater and Surface Water: Implications for Environmental Quality Standards and Drinking Water Guidelines. *Environ Sci Technol* **2018**, *52*, (7), 4340-4349.
20. Lee, Y. A.; Kim, J. H.; Jung, H. W.; Lim, Y. H.; Bae, S.; Kho, Y.; Hong, Y. C.; Shin, C. H.; Yang, S. W., The serum concentrations of perfluoroalkyl compounds were inversely associated with growth parameters in 2-year old children. *Sci Total Environ* **2018**, *628-629*, 226-232.

21. Tsai, M. S.; Miyashita, C.; Araki, A.; Itoh, S.; Bamai, Y. A.; Goudarzi, H.; Okada, E.; Kashino, I.; Matsuura, H.; Kishi, R., Determinants and Temporal Trends of Perfluoroalkyl Substances in Pregnant Women: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Int J Environ Res Public Health* **2018**, *15*, (5).
22. Averina, M.; Brox, J.; Huber, S.; Furberg, A. S., Perfluoroalkyl substances in adolescents in northern Norway: Lifestyle and dietary predictors. The Tromsø study, Fit Futures 1. *Environ Int* **2018**, *114*, 123-130.
23. Hemat, H.; Wilhelm, M.; Volkel, W.; Mosch, C.; Fromme, H.; Wittsiepe, J., Low serum levels of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorohexane sulfonate (PFHxS) in children and adults from Afghanistan. *Sci Total Environ* **2010**, *408*, (16), 3493-5.
24. Ode, A.; Rylander, L.; Lindh, C. H.; Kallen, K.; Jonsson, B. A.; Gustafsson, P.; Olofsson, P.; Ivarsson, S. A.; Rignell-Hydbom, A., Determinants of maternal and fetal exposure and temporal trends of perfluorinated compounds. *Environ Sci Pollut Res Int* **2013**.
25. UN, Country classification. Data sources, country classifications and aggregation methodology. *World Economic Situation and Prospects (WESP)*, United Nations **2014**, http://www.un.org/en/development/desa/policy/wesp/wesp_current/2014wesp_country_classification.pdf.
26. Bjermo, H.; Darnerud, P. O.; Lignell, S.; Pearson, M.; Rantakokko, P.; Nalsen, C.; Enghardt Barbieri, H.; Kiviranta, H.; Lindroos, A. K.; Glynn, A., Fish intake and breastfeeding time are associated with serum concentrations of organochlorines in a Swedish population. *Environ Int* **2013**, *51*, 88-96.
27. Lorber, M.; Eaglesham, G. E.; Hobson, P.; Toms, L. M.; Mueller, J. F.; Thompson, J. S., The effect of ongoing blood loss on human serum concentrations of perfluorinated acids. *Chemosphere* **2015**, *118*, 170-7.
28. Wong, F.; MacLeod, M.; Mueller, J. F.; Cousins, I. T., Enhanced elimination of perfluorooctane sulfonic acid by menstruating women: evidence from population-based pharmacokinetic modeling. *Environ Sci Technol* **2014**, *48*, (15), 8807-14.
29. Holmström, K.; Wetterstrand, S.; Hedenberg, G., National screening of perfluorinated contaminants (PFAA) in drinking water. *Report from the Swedish Water & Wastewater Association (in Swedish)* **2014**, 2014-20, http://vav.griffel.net/filer/SVU-rapport_2014-20.pdf.
30. Livsmedelsverket, Risk management of PFAS in drinking water and fish (in Swedish). <http://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/oonskade-amnen/miljogifter/pfas-poly-och-perfluorerade-alkylsubstanser/riskhantering-pfaa-i-dricksvatten/> **2016**.
31. Poonthong, S.; Thomsen, C.; Padilla-Sanchez, J. A.; Papadopoulou, E.; Haug, L. S., Distribution of Novel and Well-Known Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Human Serum, Plasma, and Whole Blood. *Environ Sci Technol* **2017**, *51*, (22), 13388-13396.
32. Jakobsson, K.; Kronholm Diab, K.; Lindh, C. H.; Persson, B.; Jönsson, B., Exponering för perfluorerade ämnen (PFAS) i dricksvatten i Ronneby kommun. <https://sodrasjukvardsregionen.se/download/exponering-for-perfluorerade-amnen-pfas-i-dricksvatten-i-ronneby-kommun/> **2014**.
33. Rotander, A.; Karrman, A.; Toms, L. M.; Kay, M.; Mueller, J. F.; Gomez Ramos, M. J., Novel fluorinated surfactants tentatively identified in firefighters using liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and a case-control approach. *Environ Sci Technol* **2015**, *49*, (4), 2434-42.
34. Gao, K.; Fu, J.; Xue, Q.; Li, Y.; Liang, Y.; Pan, Y.; Zhang, A.; Jiang, G., An integrated method for simultaneously determining 10 classes of per- and polyfluoroalkyl substances in one drop of human serum. *Anal Chim Acta* **2018**, *999*, 76-86.
35. Miaz, L. T.; M., P. M.; Gyllenhammar, I.; Bignert, A.; Sandblom, O.; Lignell, S.; Glynn, A.; Benskin, J. P., Temporal trends of suspect- and target-per/polyfluoroalkyl substances (PFASs), extractable organic fluorine (EOF) and total fluorine (TF) in pooled serum from first-time mothers in Uppsala, Sweden, 1996-2017. *Report to the Swedish EPA (the Health-Related Environmental Monitoring Program)* **2019**.
36. Hurley, S.; Goldberg, D.; Wang, M.; Park, J. S.; Petreas, M.; Bernstein, L.; Anton-Culver, H.; Nelson, D. O.; Reynolds, P., Breast cancer risk and serum levels of per- and poly-fluoroalkyl substances: a case-control study nested in the California Teachers Study. *Environ Health* **2018**, *17*, (1), 83.
37. Bartolome, M.; Gallego-Pico, A.; Cutanda, F.; Huetos, O.; Esteban, M.; Perez-Gomez, B.; Bioambient.es; Castano, A., Perfluorinated alkyl substances in Spanish adults: Geographical distribution and determinants of exposure. *Sci Total Environ* **2017**, *603-604*, 352-360.
38. Gebbink, W. A.; Glynn, A.; Berger, U., Temporal changes (1997-2012) of perfluoroalkyl acids and selected precursors (including isomers) in Swedish human serum. *Environ Pollut* **2015**, *199*, 166-73.
39. Coggan, T. L.; Moodie, D.; Kolobaric, A.; Szabo, D.; Shimeta, J.; Crosbie, N. D.; Lee, E.; Fernandes, M.; Clarke, B. O., An investigation into per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in nineteen Australian wastewater treatment plants (WWTPs). *Heliyon* **2019**, *5*, (8), e02316.

40. Kato, K.; Kalathil, A. A.; Patel, A. M.; Ye, X.; Calafat, A. M., Per- and polyfluoroalkyl substances and fluorinated alternatives in urine and serum by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* **2018**, 209, 338-345.
41. Livsmedelsverket, Swedish Market Basket Survey 2015.
<https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/rapporter/2017/swedish-market-basket-survey-2015-livsmedelsverkets-rapportserie-nr-26-20172.pdf> **2015**.

Bilaga till ”Koppling mellan PFAS i dricksvatten och blodhalter i Riksmaten 2016-17”

Beskrivning av PFAS-analyser av serum

Briefly, individual samples (~ 0.5 g serum in a polypropylene (PP) centrifuge tubes) were spiked with 0.5 ng each of a suite of isotopically-labelled internal standards (Table B2). The samples were extracted twice with 4 mL of acetonitrile in an ultrasonic bath. Following centrifugation, the supernatant extract was removed and the combined acetonitrile phases were concentrated to 1 mL under a stream of nitrogen. The concentrated extract underwent dispersive clean-up on graphitised carbon and acetic acid. A volume of 0.5 mL of the cleaned-up extract was added to 0.2 mL of 4 mM aqueous ammonium acetate and volumetric standards M8PFOA and M8PFOS (50 µL of a 10 pg/µL solution) were added. The extract was stored at -20°C prior to analysis. On the day of analysis, the extracts were centrifuged and transferred to an autosampler vial for instrumental analysis. 5 µL aliquots of the final extracts were injected automatically on a Waters Acquity ultra performance liquid chromatograph (UPLC) which was coupled to a Waters Xevo TQS triple quadrupole mass spectrometer. Chromatographic separation of target analytes was achieved on a BEH C18 guard column (1.7 µm, 5 × 2.1 mm; Waters) coupled to a BEH C18 analytical column (1.7 µm particles, 50 × 2.1 mm). The mobile phase consisted of ammonium acetate in water (phase A) and ammonium acetate in acetonitrile (phase B), the proportions of which were adjusted over the course of the run. The mass spectrometer was operated in negative electrospray ionisation, multiple reaction monitoring (MRM) mode. Quantification was based on isotope dilution (see Table B2 for targets and their corresponding isotopically labelled internal standards).

Samples were run in batches consisting of 30 samples plus 2 blanks and 3-4 QC samples. The QC samples consisted of pooled human serum, which were analysed both with and without a spike of authentic PFAS. Additionally, the NIST Standard Reference Material 1057 was run with every third batch. Limits of quantification (LOQs) were determined using the lowest calibration point. If a signal occurred in the method blanks within a batch, the LOQ was based on the mean blank + 3x standard deviation. LOQs differ between the batches as not all were analysed on the instrument at the same time.

Blanks were mostly non-detects with only a few very low detects in some batches. Therefore, no blank correction was conducted on the final data. Data for the 45 individual PFAS measured in the present work were classified as either ‘quantitative’, ‘semi-quantitative’, ‘qualitative’, or ‘not-reported’, based on either availability of authentic standards and/or performance of QC samples (Table B4). In all cases, we assumed that data quality for branched and linear isomers were equivalent. ‘Quantitative’ indicated that an exactly-matched authentic standard was available and that QC samples displayed reasonable accuracy and precision (25 targets). Among these targets, average recoveries ranged from 96 to 133% (RSDs 12-35%), with the best performance observed for C6-C14 PFCAs (105-120%; RSD: 12-25%) and C4, C6, C8, and C10 PFSAAs (109-119% RSDs: 20-28%). ‘Semi-quantitative’ targets were those quantified with exactly-matched authentic standards but displaying sub-optimal accuracy and/or precision for QC samples. For these targets (i.e. 6:2 and 8:2 diPAP, EtFOSAA, 7:3 FTCA, and 8:2 FTSA), average recoveries ranged from 67 – 152% (RSD: 30-63%). ‘Qualitative’ targets included PFHxDA, PFOcDA, 6:2/8:2 diPAP, FOSAA, 3:3 and 5:3 FTCA, and 6:2 FTS, for which very poor accuracy and precision were observed, as well as PFPeS, PFHpS, PFNS, PFUnDS, and PFPeDA, for which authentic standards were unavailable and therefore method performance could not be assessed. We note that most targets displaying poor accuracy and/or precision did not have exactly matched isotopically labelled internal standards. It is expected that as both authentic and isotopically labelled standards become available, data quality for all of these ‘qualitative’ targets will improve considerably. Finally, 1 target (HFPO-DA) was not reported due to very poor recoveries and reproducibility in QC samples across all batches. The reason for this is unclear but may have to do with in-course fragmentation, a phenomenon that has been previously reported for this particular target (Vughs et al. 2019).

Finally, NIST values were in good agreement with both the certified values and those reported by others previously (Gebbink et al. 2015).

Tabell B1. List of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) included in the serum analyses.

Target	Abbreviation
Perfluorohexanoic acid	PFHxA
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA
Perfluorooctanoic acid, linear isomer	lin-PFOA
Perfluorooctanoic acid, branched isomer	br-PFOA
Perfluorononanoic acid	PFNA
Perfluorodecanoic acid	PFDA
Perfluoroundecanoic acid	PFUnDA
Perfluorododecanoic acid	PFDoDA
Perfluorotridecanoic acid	PFTriDA
Perfluorotetradecanoic acid	PFTeDA
Perfluoropentadecanoic acid	PFPeDA
Perfluorohexadecanoic acid	PFHxDA
Perfluorooctadecanoic acid	PFOcDA
Perfluorobutane sulfonic acid	PFBS
Perfluoropentane sulfonic acid	PFPeS
Perfluorohexane sulfonic acid, linear isomer	lin-PFHxS
Perfluorohexane sulfonic acid, branched isomer	br-PFHxS
Perfluoroheptane sulfonic acid	PFHpS
Perfluorooctane sulfonic acid, linear isomer	lin-PFOS
Perfluorooctane sulfonic acid, branched isomer	br-PFOS
Perfluorononane sulfonic acid	PFNS
Perfluorodecane sulfonic acid, linear isomer	lin-PFDS
Perfluorodecane sulfonic acid, branched isomer	br-PFDS
Perfluoroundecane sulfonic acid	PFUnDS
Perfluorooctane sulfonamide, linear isomer	lin-FOSA
Perfluorooctane sulfonamide, branched isomer	br-FOSA
Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid, linear isomer	lin-FOSAA
Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid, branched isomer	br-FOSAA
N-methylperfluorooctansulfonamide acetic acid, linear isomer	lin-MeFOSAA
N-methylperfluorooctansulfonamide acetic acid, branched isomer	br-MeFOSAA
N-Ethyl Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid, linear isomer	lin-EtFOSAA
N-Ethyl Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid, branched isomer	br-EtFOSAA
9-chlorohexadecafluoro-3-oxanonane-1-sulfonic acid	9Cl-PF3ONS
11-chloroeicosafluoro-3-oxanonane-1-sulfonic acid	11Cl-PF3OUdS
Ammonium 4,8-dioxa-3H-perfluorononanoate	ADONA
3:3 Fluorotelomer carboxylic acid	3:3 FTCA
5:3 fluorotelomer carboxylic acid	5:3 FTCA
7:3 fluorotelomer carboxylic acid	7:3 FTCA
1H,1H,2H,2H-perfluorohexane sulfonate	4:2 FTSA
1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	6:2 FTSA
1H,1H,2H,2H-perfluorodecane sulfonate	8:2 FTSA
6:2 Fluorotelomer phosphate diester	6:2 diPAP
8:2 Fluorotelomer phosphate diester	8:2 diPAP
6:2/8:2 Fluorotelomer phosphate diester	6:2/8:2 diPAP

Tabell B2. Target analytes with their quantification and qualifications ions as well as the internal standard used for quantification of PFAS in serum. “lin” indicates linear isomers, and “br” indicates branched isomer.

Target Analyte	Precursor ion	Quant. product ion	Qual. product ion	Standard	IS	IS transition	Data Quality ¹
PFHxA	313	269	119	lin-PFHxA	¹³ C ₂ -PFHxA	315/270	Quant
PFHpA	363	319	169	lin-PFHpA	¹³ C ₄ -PFOA	367/322	Quant
lin-PFOA	413	369	169	lin-PFOA	¹³ C ₄ -PFOA	417/372	Quant
br-PFOA	413	369	169	lin-PFOA	¹³ C ₄ -PFOA	417/372	Quant
PFNA	463	419	219	lin-PFNA	¹³ C ₆ -PFNA	468/423	Quant
PFDA	513	469	269	lin-PFDA	¹³ C ₂ -PFDA	515/470	Quant
PFUnDA	563	519	269	lin-PFUnDA	¹³ C ₂ -PFUnDA	565/520	Quant
PFDoDA	613	569	169	lin-PFDoDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615/570	Quant
PFTTrDA	662.9	619	169	lin-PFTTrDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615/570	Quant
PFTeDA	712.9	669	169	lin-PFTeDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615/570	Quant
PFPeDA	762.9	719	169	lin-PFTeDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615/570	Qual
PFHxDA	813	769	169	lin-PFHxDA	¹³ C ₂ -PFHxDA	615/570	Qual
PFOcDA	913	869	169	lin-PFOcDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615/570	Qual
PFBS	298.9	80	99	lin-PFBS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	403/84	Quant
PFPeS	348.9	80	99	lin-PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	403/84	Qual
lin-PFHxS	398.9	80	99	lin-PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	403/84	Quant
br-PFHxS	399	80	99	lin-PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	403/84	Quant
PFHpS	448.9	80	99	lin-PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	403/84	Qual
lin-PFOS	498.9	80, 99		lin-PFOS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
br-PFOS	498.9	80, 99		lin-PFOS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
PFNS	548.9	80	99	lin-PFOS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Qual
lin-PFDS	598.9	80	99	lin-PFDS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
br-PFDS	598.9	80	99	lin-PFDS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
PFUnDS	648.9	80	99	lin-PFDS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Qual
lin-FOSA	497.9	78	169	lin-FOSA	¹³ C ₈ -FOSA	506/78	Quant
br-FOSA	497.9	78	169	lin-FOSA	¹³ C ₈ -FOSA	506/78	Quant
lin-FOSAA	555.9	498	419	lin-FOSAA	D ₃ -MeFOSAA	573/419	Qual
br-FOSAA	555.9	498	419	lin-FOSAA	D ₃ -MeFOSAA	573/419	Qual
lin-MeFOSAA	570	419	483	lin-MeFOSAA	D ₃ -MeFOSAA	573/419	Quant
br-MeFOSAA	570	419	483	lin-MeFOSAA	D ₃ -MeFOSAA	573/419	Quant
lin-EtFOSAA	584	419	526	lin-EtFOSAA	D ₅ -EtFOSAA	589/419	Semi-Q
br-EtFOSAA	584	419	526	lin-EtFOSAA	D ₅ -EtFOSAA	589/419	Semi-Q
9Cl-PF3ONS	531	351	83	lin-9Cl-PF3ONS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
11Cl-PF3OUdS	631	451	83	lin-11Cl-PF3OUdS	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
ADONA	377	251	85	ADONA	¹³ C ₄ -PFOS	503/80	Quant
3:3 FTCA	241	117	177	lin-3:3 FTCA	¹³ C ₄ -PFOA	417/372	Qual
5:3 FTCA	341	237	217	lin-5:3 FTCA	¹³ C ₄ -PFOA	417/372	Qual
7:3 FTCA	441	337	148	lin-7:3 FTCA	¹³ C ₄ -PFOA	417/372	Semi-Q
4:2 FTSA	327	307	80.6	lin-4:2 FTSA	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	429/409	Quant
6:2 FTSA	427	407	80.6	lin-6:2 FTSA	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	429/409	Qual
8:2 FTSA	527	507	80.6	lin-8:2 FTSA	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	429/409	Semi-Q
6:2 diPAP	789	443	97	lin-6:2 diPAP	¹³ C ₄ -6:2 diPAP	793/445	Semi-Q
8:2 diPAP	989	543	97	lin-8:2 diPAP	¹³ C ₄ -8:2 diPAP	993/545	Semi-Q
6:2/8:2 diPAP	889	443	543	lin-6:2/8:2 diPAP	¹³ C ₄ -8:2 diPAP	993/545	Qual
¹³ C ₈ -PFOA ²	421	376					
¹³ C ₈ -PFOS ²	507	80					

¹Quant = quantitative; indicates that an authentic standard is available and QC samples displayed reasonable accuracy and precision across all batches. Note that the data quality for branched isomers is assumed to be the same as their linear counterpart.

Semi-Q = Semi-quantitative; indicates authentic standard was used but sub-optimal accuracy and/or precision was obtained across all batches. Note that the data quality for branched isomers is assumed to be the same as their linear counterpart.

Qual = qualitative; indicates that an authentic standard was not available in which case quantification was performed with a structurally similar substance, OR that poor accuracy and/or precision was observed for QC samples. Note that the data quality for branched isomers is assumed to be the same as their linear counterpart.

NR = Not Reported. Spikes were not recovered in most QC samples.

² ¹³C₈-PFOA and ¹³C₈-PFOS were used as recovery internal standards.

Tabell B3. PFAS analyserade i dricksvattnet och deras motsvarande molekylformel

Substanser		Molekylformel
PFCAs		
PFBA	Perfluorbutansyra	$C_3F_7CO_2H$
PFPeA	perfluorpentansyra	$C_4F_9CO_2H$
PFHxA	perfluorhexansyra	$C_5F_{11}CO_2H$
PFHpA	perfluorheptansyra	$C_6F_{13}CO_2H$
PFOA	perfluoroktansyra	$C_7F_{15}CO_2H$
PFNA	perfluornonansyra	$C_8F_{17}CO_2H$
PFDA	perfluordekansyra	$C_9F_{19}CO_2H$
PFUnDA	perfluorundekansyra	$C_{10}F_{21}CO_2H$
PFDoDA	perfluordodekansyra	$C_{11}F_{23}CO_2H$
PFTriDA	perfluortridekansyra	$C_{12}F_{25}CO_2H$
PFTeDA	perfluortetradekansyra	$C_{13}F_{27}CO_2H$
PFHxDA	perfluorhexadekansyra	$C_{15}F_{31}CO_2H$
PFOcDA	Perfluoroktadekansyra	$C_{17}F_{35}CO_2H$
PFSA		
PFBS	Perfluorbutansulfonsyra	$C_4F_9SO_3H$
PFHxS	Perfluorhexansulfonsyra	$C_6F_{13}SO_3H$
PFOS	Perfluoroktansulfonsyra	$C_8F_{17}SO_3H$
PFDS	perfluordekansulfonsyra	$C_{10}F_{21}SO_3H$
FOSAA		
FOSAA	perfluoroktansulfonamidättiksyra	$C_8F_{17}SO_2N HCH_2CO_2$
MeFOSAA	N-metyl- perfluoroktansulfonamidättiksyra	$C_8F_{17}SO_2N CH_3CH_2CO_2$
EtFOSAA	N-etyl- perfluoroktansulfonamidättiksyra	$C_8F_{17}SO_2N (CH_2)_2CH_2CO_2$
FTSAs		
6:2 FTSA	6:2 fluortelomersulfonsyra	$C_8H_4F_{13}SO_3H$
8:2 FTSA	8:2 fluortelomersulfonsyra	$C_{10}H_4F_{17}SO_3H$
10:2 FTSA	10:2 fluortelomersulfonsyra	$C_{12}H_4F_{21}SO_3H$
FOSAs		
FOSA	perfluoroktansulfonamid	$C_8F_{17}SO_2 NH$

Tabell B4. Halter av "extra target"-PFAS i serum från deltagarna i Riksmaten ungdom (N=1107). I tabellen visas både halter över kvantifieringsgränsen (LOQ) och detektionsgränsen (LOD). I kolumnen "Analyskvalitet" anges hur säkra resultaten är. Endast data för PFAS som anges som "Quantitative" kan anses vara säkra ur en analytisk synvinkel. Halter som ligger under LOQ men är detekterade får anses vara "Semi-quantitative". "Qualitative" är mest osäkra. PFOcDA, N=834; PFPeS, N=837; 5:3 FTCA, N=957; 6:2 FTSA, N=567).

	LOQ	Kvantifierad/detekterad (N)	Analyskvalitet
PFHxDA	0,058-5,1)	0,02-1,5 (6)	Qualitative
PFOcDA	0,29-35	0,31-8,5 (3)	Qualitative
PFPeS	0,27-3,3	0,14-1,9 (23)	Qualitative
PFHpS	0,022-3,3	0,02-5,8 (105)	Qualitative
PFNS	0,022-3,3	(0)	Qualitative
PFUnDS	0,022-3,4	(0)	Qualitative
6:2 diPAP	0,084-1,0	0,12-0,26 (6)	Semi-quantitative
8:2 diPAP	0,61-13	1,3 (1)	Semi-quantitative
6:2/8:2 diPAP	0,29-44	0,74 (1)	Qualitative
l-FOSAA	0,024-3,6	0,02-0,09 (8)	Qualitative
Br-FOSAA	0,024-3,6	(0)	Qualitative
l-MeFOSAA	0,060-3,6	0,01-6,4 (99)	Quantitative
br-MeFOSAA	0,060-3,6	(0)	Quantitative
l-EtFOSAA	0,06-1,0	0,04-0,50 (19)	Semi-quantitative
br-EtFOSAA	0,024-1,0	(0)	Semi-quantitative
9Cl-PF3ONS	0,024-3,5	0,01-1,2 (60)	Quantitative
11Cl-PF3OUdS	0,060-3,5	0,01-0,03 (7)	Quantitative
ADONA	0,024-3,6	0,07 (1)	Quantitative
3:3 FTCA	1,0-12	(0)	Qualitative
5:3 FTCA	0,024-0,29	0,03-0,15 (3)	Qualitative
7:3 FTCA	0,024-0,29	0,03-0,17 (7)	Semi-quantitative
4:2 FTSA	0,06-0,29	0,06 (1)	Quantitative
6:2 FTSA	0,082-3,5	0,07-150 (30)	Qualitative
8:2 FTSA	0,024-3,5	0,09-0,42 (4)	Semi-quantitative