

BOLLETTINO DELLE GIUNTE E DELLE COMMISSIONI PARLAMENTARI

INDICE

COMMISSIONE PARLAMENTARE DI INCHIESTA SULLE ATTIVITÀ IL- LECITE CONNESSE AL CICLO DEI RIFIUTI E SU ILLECITI AMBIENTALI AD ESSE CORRELATI	Pag. 3
--	--------

N. B. Sigle dei gruppi parlamentari: Partito Democratico: PD; MoVimento 5 Stelle: M5S; Forza Italia - Il Popolo della Libertà - Berlusconi Presidente: (FI-PdL); Area Popolare-NCD-Centristi per l'Italia: AP-NCD-CpI; Sinistra Italiana-Sinistra Ecologia Libertà: SI-SEL; Lega Nord e Autonomie - Lega dei Popoli - Noi con Salvini: (LNA); Scelta civica-ALA per la Costituente Liberale e Popolare-MAIE: SC-ALA CLP-MAIE; Civici e Innovatori (CI); Democrazia Solidale-Centro Democratico (DeS-CD); Fratelli d'Italia-Alleanza Nazionale: (FdI-AN); Misto: Misto; Misto-Minoranze Linguistiche: Misto-Min.Ling; Misto-Partito Socialista Italiano (PSI) - Liberali per l'Italia (PLI): Misto-PSI-PLI; Misto-Alternativa Libera-Possibile: Misto-AL-P; Misto-Conservatori e Riformisti: Misto-CR; Misto-USEI-IDEA (Unione Sudamericana Emigrati Italiani): Misto-USEI-IDEA; Misto-FARE! - Pri: Misto-FARE! - Pri; Misto-UDC: Misto-UDC.

PAGINA BIANCA

ALLEGATO

**Relazione sull'inquinamento da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS)
in alcune aree della regione Veneto
(Relatori: on. Alessandro Bratti, sen. Luis Alberto Orellana e on. Giovanna Palma)**

INDICE

1.	<i>Le caratteristiche degli inquinanti PFAS, loro presenza nell'uomo e diffusione nell'ambiente.....</i>	<i>5</i>
1.1	<i>Gli effetti tossicologici</i>	<i>13</i>
1.1.1	<i>Sugli animali.....</i>	<i>13</i>
1.1.2	<i>Sull'uomo.....</i>	<i>15</i>
2.	<i>La situazione italiana</i>	<i>25</i>
3.	<i>Il monitoraggio dei lavoratori della Miteni.....</i>	<i>30</i>
4.	<i>L'inquinamento da PFAS nella Valle del Chiampo.....</i>	<i>35</i>
5.	<i>Le modalità dell'inquinamento.....</i>	<i>41</i>
6.	<i>In particolare, la situazione della ditta Miteni</i>	<i>47</i>
7.	<i>Il procedimento amministrativo di bonifica in corso nel sito, concernente sia la falda, sia i terreni.</i>	<i>57</i>
7.1	<i>Ulteriori attività di caratterizzazione</i>	<i>61</i>
8.	<i>La denuncia di ARPA Veneto alla procura della Repubblica in Vicenza.....</i>	<i>61</i>
9.	<i>La verifica di conformità all'autorizzazione integrata ambientale.</i>	<i>69</i>
10.	<i>L'attuale estensione territoriale delle sostanze perfluoroalchiliche</i>	<i>71</i>
11.	<i>Considerazioni sui limiti ambientali.....</i>	<i>77</i>
12.	<i>Conclusioni.....</i>	<i>84</i>

ALLEGATI:

- 1 – Tabelle presenti nella relazione presentata da rappresentanti dell'ENEA in occasione dell'audizione del 6 luglio 2016 (Doc. n. 1383/2)
- 2 – Relazione del dottor Giovanni Costa riguardante il monitoraggio biologico relativo all'esposizione ad acido perfluorottanoico (pfoa) (Doc. n. 1578/2)
- 3 – Relazione tecnica del professor Gianluca Maria Farinola riguardante i composti perfluoroalchilici come inquinanti delle acque per consumo umano caratteristiche, diffusione, aspetti tossicologici, standard di qualità ambientale (Doc. n. 1535/2)

PAGINA BIANCA

1. Le caratteristiche degli inquinanti PFAS, loro presenza nell'uomo e diffusione nell'ambiente

Le sostanze perfluoroalchiliche, il cui acronimo generale è PFAS, sono sostanze costituite da catene di atomi di carbonio cui sono legati atomi di fluoro, sostanze, quindi, appartenenti alla categoria dei composti organo-alogenati.

Tali composti, che variano da catene a 4 atomi di carbonio a catene con 12 atomi di carbonio, sono molto diffuse nel mondo, in quanto sono impiegate per moltissimi usi.

Nella tabella seguente vengono elencate le singole sostanze perfluoroalchiliche, con il loro nome chimico, ordinate da quelle a 4 atomi di carbonio fino a quelle a 12 atomi di carbonio.

Numero atomi carbonio	Nome chimico della sostanza perfluoroalchilica	Acronimo del nome
4	Acido Perfluoro Butanoico	PFBA
4	Perfluoro Butan Sulfonato	PFBS
5	Acido Perfluoro Pentanoico	PFPeA
6	Acido Perfluoro Esanoico	PFHxA
6	Perfluoro Esan Sulfonato	PFHxS
7	Acido Perfluoro Eptanoico	PFHpA
8	Acido Perfluoro Ottanoico	PFOA
8	Perfluoro Ottan Solfonato	PFOS
9	Acido Perfluoro Nonanoico	PFNA
10	Acido Perfluoro Decanoico	PFDeA
11	Acido Perfluoro Undecanoico	PFUnA
12	Acido Perfluoro Dodecanoico	PFDoA

L'insieme di tutte le singole sostanze sopra riportate viene indicato con l'acronimo PFAS

Tutte le sostanze sopra elencate si ritrovano nelle acque di falda nelle zone inquinate della regione Veneto.

Tuttavia, le sostanze perfluoroalchiliche più frequenti e in concentrazioni più elevate, riscontrate presso la Miteni, sono quelle con 4 atomi di carbonio, cioè PFBA e PFBS, nonché quelle con 8 atomi di carbonio, PFOA e PFOS.

Le stesse sostanze si ritrovano anche nelle matrici ambientali, acque di falda e acque superficiali, della vasta area delle province di Vicenza, Verona e Padova, interessata dalla contaminazione da PFAS.

Le sostanze perfluoroalchiliche con 8 atomi di carbonio hanno una pericolosità maggiore rispetto a quelle con 4 atomi di carbonio e sono più pericolose rispetto anche agli altri rimanenti PFAS sopra elencati.

La presenza di numerosi legami carbonio-fluoro conferisce particolari caratteristiche fisico-chimiche a tali composti, come la repellenza all'acqua e ai grassi, la stabilità termica e la tensioattività che le rendono molto utili in un ampio campo di applicazioni industriali e di prodotti di largo consumo.

I PFAS sono stati quindi utilizzati, a partire dagli anni '50, come emulsionanti e tensioattivi in prodotti per la pulizia, nella formulazione di insetticidi, rivestimenti protettivi, schiume antincendio e vernici. Sono impiegati anche nella produzione di capi d'abbigliamento impermeabili, in prodotti per stampanti, pellicole fotografiche e superfici murarie, in materiali per la microelettronica. I composti perfluoroalchilici vengono usati, inoltre, nei rivestimenti dei contenitori per il cibo, come ad esempio quelli dei *fast food* o nei cartoni delle pizze d'asporto, nella produzione del Teflon (dalle note proprietà antiaderenti) e del Gore-Tex, materiale che ha trovato applicazione in numerosi campi.

Come conseguenza dell'estensiva produzione e uso dei PFAS e delle loro peculiari caratteristiche fisico-chimiche, questi composti sono stati spesso rilevati in concentrazioni significative in campioni ambientali e in organismi viventi, incluso esseri umani¹.

Inoltre, nella nota riassuntiva², consegnata da Stefano Polesello, rappresentante del CNR nel corso dell'audizione del 25 maggio 2016, su cui ci si soffermerà di seguito, si riferisce che i composti perfluorurati, in particolare PFOA e PFOS, sono ormai diffusi in tutte le parti del globo (compresi i poli), a causa della loro persistenza, determinata dall'elevata stabilità chimica. Il mezzo di trasporto e assunzione, a differenza dei composti organici persistenti (POP) clorurati, è l'acqua e gli stessi si accumulano negli organismi apicali della catena trofica, uomo compreso.

A tale proposito, un dato molto efficace per far comprendere la persistenza e la diffusione ambientale delle sostanze perfluoroalchiliche è rappresentato dalla contaminazione rilevata nelle popolazioni Inuit di Nunavut (Canada)³, popolazioni che abitano siti remoti e la cui dieta è costituita principalmente da carne di Caribou, che evidentemente non è esente dall'accumulo di queste molecole prodotte a migliaia di chilometri di distanza.

¹ Fonti: Ministero dell'ambiente e CNR - IRSA

² Doc. 1248/1

³ S.K. Ostertag, B.A. Tague, M.M. Humphires, S.A. Tittlemier, H.M. Chan "Estimated dietary exposure to fluorinated compounds from traditional foods among Inuit in Nunavut, Canada" *Chemosphere* 2009, 75: 1165-1172.

La caratteristica, che li rende potenzialmente pericolosi, è costituita dal fatto che si accumulano non nel grasso, bensì nel sangue e nel fegato, rendendosi così biologicamente più disponibili, con lunghi tempi di eliminazione dall'organismo. Inoltre, nella nota anzidetta si sottolinea che sia il PFOS, sia il PFOA possono attraversare la placenta, con la conseguenza che i neonati sono esposti a queste sostanze contenute nel sangue materno.

Le suddette sostanze hanno scarsa tossicità acuta e cronica, ma i loro effetti sono principalmente di natura subletale, comportandosi da interferenti endocrini (in particolare, nel metabolismo dei grassi e avendo sospetta azione estrogenica) e cancerogena.

Invero, non solo questi composti sono capaci di diffondersi attraverso i mezzi acquosi (ad esempio corpi idrici interni, falde sotterranee), ma hanno anche proprietà di bioaccumulo nei tessuti degli organismi e di aumento di concentrazione lungo la catena alimentare, la biomagnificazione.

A sua volta, il bioaccumulo non segue prevalentemente il comportamento più comune delle sostanze inquinanti organiche, ossia l'accumulo nei tessuti grassi, ma - come si è sopra osservato - si connota per una singolare affinità per le proteine. Per questa ragione i PFAS sono sostanze che si accumulano prevalentemente nel sangue e nel fegato.

In effetti, a comprova di tali affermazioni, uno studio congiunto tra l'Istituto superiore di sanità (ISS) e il Policlinico Umberto I di Roma⁴, eseguito su 38 donne in gravidanza che vivono a Roma, sottolinea l'esistenza di una correlazione tra gli inquinanti presenti nel sangue delle donne e il passaggio nel sangue dei neonati, attraverso il cordone ombelicale. Invero, lo studio, eseguito negli anni 2008 - 2009, ha misurato le concentrazioni di inquinanti persistenti nel sangue delle donne (la misura è stata fatta nel siero del sangue) e le concentrazioni ritrovate nel siero del sangue dei neonati, accertandone il passaggio da madre a figlio. In conclusione, gli inquinanti dall'ambiente giungono nel sangue delle persone, attraverso la catena alimentare, e poi dalle madri passano anche ai neonati attraverso la placenta e il cordone ombelicale.

I PFAS non possono essere metabolizzati dai mammiferi, ma solo eliminati mediante escrezione. All'interno del corpo si legano alle proteine e si distribuiscono nel siero del sangue, nei reni, nel fegato, e sono stati rilevati anche nel latte materno.

Il tempo di dimezzamento nell'uomo è compreso tra i 2 ed i 9 anni.

⁴ Doc. 1245/2

Come osserva il consulente incaricato di questa Commissione di inchiesta, professor Gianluca Maria Farinola⁵, nella relazione depositata in data 5 novembre 2016⁶, alle caratteristiche chimico-fisiche sopra discusse si aggiunge la particolare stabilità di queste molecole, dovuta principalmente alla grande forza del legame chimico tra gli atomi di carbonio e gli atomi di fluoro. Tale stabilità rende i PFAS molto resistenti alla degradazione ambientale sia ossidativa (ossidazione da parte dell'ossigeno atmosferico e per via microbiologica), sia fotochimica (processi di degradazione indotti dall'esposizione alla radiazione solare, in particolare, alla radiazione ultravioletta).

La straordinaria stabilità chimica comporta un'elevata persistenza ambientale, che si traduce nella permanente presenza di questi composti nei comparti direttamente contaminati e in quelli in cui essi si propagano, ad esempio attraverso scambi idrici, anche molti anni dopo che la sorgente di immissione sia stata rimossa.

Il professor Farinola, nella relazione depositata, sottolinea che esistono varie modalità attraverso le quali le sostanze perfluoroalchiliche possono essere assunte dall'uomo, alcune delle quali anche inattese, quali inalazione (anche in ambienti domestici) e contatto con oggetti contaminati, pur se ovviamente la fonte primaria è costituita dall'ingestione di alimenti e di acqua potabile inquinanti.

La contaminazione degli alimenti è poi essa stessa correlata con quella dell'acqua, sia nella forma ovvia di assunzione di alimenti di origine animale (ad esempio pesce pescato o allevato in acque inquinate),⁷ sia attraverso il consumo di alimenti vegetali provenienti da colture irrigate con acque contaminate.⁸

Studi condotti in proposito hanno mostrato che l'assorbimento da parte di vegetali di PFOA e PFOS da suoli inquinati immette queste sostanze nella catena alimentare umana e ne spiega la presenza - ad esempio - anche in alimenti di origine animale, fino a ritrovarsi nel sangue e nel latte umano.

5 Il Prof. Gianluca Maria Farinola è Ordinario di Chimica Organica presso il Dipartimento di Chimica dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro". E' stato Invited Visiting Professor presso le università di Muenster (Germania,) 2009, Strasburgo (Francia) 2012-2013, Angers (Francia) 2015. Il Prof. Farinola è membro del Consiglio Direttivo della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana e segretario della Divisione di Chimica Organica dell'EuChEMS (Società Chimica Europea). Il Prof. Farinola è stato titolare di insegnamenti di Chimica dell'Ambiente e di Chimica degli Inquinanti Marini presso il Corso di Laurea in Scienze Ambientali, ed è autore di numerosissime pubblicazioni sulla chimica dei composti organici fluorurati.

6 Doc. 1535/2

7 Ad esempio, vedasi : S.A. Tittlemier, K. Pepper, C. Seymour, J. Moisey, R. Bronson, X.L. Cao, R.W. Dabeka "Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging" J. Agric. Food. Chem. 2007, 55:3230-3210.

8 Ad esempio, vedasi: T. Stahl, J. Heyn, H. Thiele, J. Hunter, K. Failing, S. Georgii, H. Brunn "Carryover of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) from soil to plants" Arch. Environ. Cotam. Toxicol. 2009, 57:289-298.

La rilevazione del PFOA nel sangue umano venne effettuata per la prima volta nel 1978 in analisi cliniche di operai della 3M (*Danish EPA 2005 Project n. 1013*)⁹.

Solo più tardi, nel 2002, la OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) ha denunciato i pericoli legati all'uso del PFOS come sostanza persistente nell'ambiente e molto tossica per i mammiferi.

La combinazione delle caratteristiche chimico-fisiche sopra discusse, ossia, la facilità di diffusione attraverso i corpi idrici, la tendenza alla bioaccumulazione nell'organismo degli animali, inclusi i mammiferi, e alla biomagnificazione, la stabilità che determina una elevatissima persistenza e diffusione, dà immediata intuizione della pericolosità ambientale dei PFAS.

Tra i vari studi condotti in numerosi paesi europei, un'indagine dell'agenzia di sicurezza tedesca (BfR) ha valutato l'esposizione quotidiana, attraverso la dieta, a PFOA e PFOS¹⁰.

Da questo studio è emerso che l'acqua potabile gioca, in condizioni normali, un ruolo relativamente limitato nella esposizione totale al PFOS (0.02-0.08 ng/kg BW5/giorno) e al PFOA (0.32-0.40 ng/kg BW/giorno¹¹). Tuttavia, in caso di specifiche contaminazioni, il ruolo dell'acqua potabile nella esposizione a queste sostanze può diventare considerevole.

Due principali casi di studio, a livello mondiale, di contaminazione ambientale massiva da PFOA in acqua potabile sono stati descritti in dettaglio: il primo accaduto a Little Hocking (Ohio, USA) e il secondo a Sauerland (Renania Settentrionale - Vestfalia, Germania).¹²

Il caso americano è stato documentato sin dal 2004 attraverso il monitoraggio di pozzi acquatici in un bacino di approvvigionamento idrico (Little Hocking Water Association) in Ohio, vicino ad una fonte di PFOA accertata, ossia una azienda della DuPont che produceva materiali perfluorurati, riversando nel fiume Ohio i suoi reflui idrici.

In questo studio, concentrazioni di PFOA di 1.900-10.100 ng/l (2004), 3.900-18.600 ng/l (gennaio 2005) e 1.900-6.600 ng/l (marzo 2005) furono misurate in quattro pozzi della fonte di approvvigionamento idrico centrale.

⁹ cfr. Doc. 1246/2, prodotto dal rappresentante dell'ENEA, Marina Mastrantonio, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016.

¹⁰ Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Gesundheitliche Risiken durch PFOS und PFOA in Lebensmitteln sind nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand unwahrscheinlich. Stellungnahme Nr. 004/2009 2008.

¹¹ µg /Kg BW = microgrammi per chilogrammo di peso corporeo.

¹² H. Fromme, S.A. Tittlemier, W. Volkel, M. Wilhelm, D. Twardella "Perfluorinated compounds - exposure assessment for the general population in western countries" Int. J. Hyg. Environ. Health (2009), 212:239-270

A seguito di una *class-action* da parte della popolazione interessata, la DuPont fu costretta a finanziare una ricerca indipendente, denominata C8 Health Project (C8HP) per lo studio dei composti perfluorurati ad 8 atomi di carbonio (come ad esempio il PFOS e il PFOA) e dei loro effetti come contaminanti ambientali e inquinanti pericolosi per la salute umana.

Lo studio condotto nel 2005 e 2006 su una popolazione di circa 69.000 persone residenti in sei distretti idrici interessati e basato su questionari ed analisi ematiche, rivelò un livello medio serico di PFOA di 83 ng/l (oltre 20 volte superiore a quella media dei cittadini degli Stati Uniti, pari a 4-5 ng/l). Tale livello risultava maggiore tra coloro che consumavano verdure locali e tra gli utilizzatori di acqua di pozzo, mentre era più basso tra coloro che utilizzavano acqua in bottiglia.

La più alta concentrazione di PFOA nel siero sanguigno (374 ng/l) venne misurata tra i soggetti che usavano per la fornitura idrica esclusivamente acqua dal centro di approvvigionamento idrico di Litte Hocking. L'uso privato di filtri a carbone per l'acqua permetteva una significativa riduzione del livello ematico di PFOA e PFAS. Viceversa, i soggetti che consumavano acqua proveniente dall'esterno della area della Little Hocking mostravano valori di concentrazioni di PFOA molto più bassi.¹³

Riguardo il caso della regione del Sauerland in Germania, la prima scoperta fu fatta nel 2006 da D. Skutlarek e altri autori¹⁴, che riportavano livelli di insieme di 7 PFC (composti perfluoroalchilici) nell'acqua potabile tra 26 e 598 ng/l.

Il composto più abbondante osservato era il PFOA, i cui valori nell'acqua potabile oscillavano tra 22 e 519 ng/l. In sei città di quest'area furono trovate concentrazioni sopra i 100 ng/l. La proporzione di PFOA sul totale delle sostanze perfluorurate (PFC) rilevate era 50-80 per cento. La fonte di immissione si rivelò costituita da rifiuti industriali con elevata concentrazione di PFC, che erano stati immessi nel suolo da una compagnia di smaltimento rifiuti e disseminati da agricoltori nella regione agricola del Sauerland.

I PFC immessi nel suolo erano poi stati dilavati dall'area altamente contaminata in piccoli ruscelli e acque di superficie (fiumi Ruhr, Mohne), dai quali l'acqua potabile veniva prelevata per l'approvvigionamento di molti milioni di residenti nel distretto della Ruhr. Un controllo effettuato tra il mese di luglio del 2006 e il mese di agosto del 2007 mostrò che la somma di PFOS e PFOA

13 E.A. Emmett, F.S. Shofer, H. Zhang, D. Freeman, C. Desai, L.M. Shaw 2006 "Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources." J. Occup. Environ. Med. 48, 759-770.

14 D. Skutlarek, M. Exner, H. Farber 2006 "Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters" Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 13, 299-307.

nell'acqua potabile da 17 impianti di fornitura di acqua potabile lungo il fiume Ruhr era al di sotto di 300 ng/l e che i livelli medi erano tra 50 e 100 ng/l.

Nel punto più contaminato di Mohnbogen, il trattamento con carbone attivo si dimostrava efficace nel rimuovere PFOA dall'acqua potabile. La concentrazione iniziale di PFOA maggiore di 500 ng/l, osservata nel maggio 2006, declinava rapidamente a valori molto al di sotto di 100 ng/l, dopo l'uso di filtri a carbone. Questa concentrazione fu dunque stabilita come uno *standard* di qualità a lungo termine derivante da valori precauzionali per la salute.

Un dato interessante riguardo il caso in Germania è costituito dalle concentrazioni di PFOA misurate nel plasma sanguigno dei cittadini di Arnsberg, la cui sorgente di acqua potabile nel 2006 era il fiume Mohne contaminato. Tali concentrazioni risultavano da 4.5 a 8.3 volte superiore, rispetto a quello di popolazioni di riferimento nelle città vicine (Siegen, Brilon).

Uno studio di *follow-up* ha dimostrato che l'eliminazione dei PFC dal corpo umano avviene lentamente (10 per cento all'anno per gli uomini, 17 per cento per le donne e 20 per cento per i bambini). In queste zone, dopo la contaminazione, le concentrazioni di PFOA e PFOS nell'acqua potabile erano di 640 ng/l, mentre la commissione per l'acqua potabile in Germania aveva derivato una concentrazione critica di 300 ng/l, quale soglia massima per lunghe esposizioni.

Un terzo studio di contaminazione di interesse, anche se di dimensioni più limitate, è quello citato dal direttore generale della Direzione prevenzione sanitaria presso il Ministero della salute, Raniero Guerra, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016.

Lo studio compiuto a Tarragona (Spagna) dimostrò un accumulo di PFAS a catena corta in fegato, polmoni, ossa, rene e cervello in materiale autoptico derivato da una settantina di cadaveri.

E' interessante, infine, menzionare brevemente i dati riguardanti città del Nord America, raccolti nell'ambito di uno studio americano denominato Multy City Study¹⁵. Tale indagine ha rilevato PFOA a concentrazioni di 26-27 ng/l e PFOS a concentrazioni di 57-63 ng/l nell'acqua di rubinetto a Columbus. Nelle restanti cinque città le concentrazioni solitamente non superavano il limite di 2,5 ng/l per PFOS e 7,5 ng/l per PFOA. Solo in una campione di acqua potabile da Pensacola la concentrazione di PFOS raggiungeva i 42-47 ng/l.

In Europa, sono state riportate concentrazioni medie di PFOA minori di 2-4 ng/l in campioni di acqua potabile (14 ng/l in Germania, 1 ng/l in Francia ed 1 ng/l in Inghilterra).

15 US EPA, 2001. Analysis of PFOS, FOSA, and PFOA from various food matrices using HPLC electrospray/mass spectrometry. 3M Study conducted by Centre Analytical Laboratories, Inc. /http://www.ewg.org/files/multicity_full.pdf

Per l'insieme di tali ragioni - prosegue il professor Farinola, nella sua relazione - la Commissione europea ha incluso il PFOS nella lista delle sostanze inquinanti prioritarie, fissando lo standard di qualità ambientale (*Environmental Quality Standard*, EQS) a 0.65 ng/l per l'acqua dolce e 9,1 ng/g, per il biota (direttiva 2013/39/EC).

Non sono definiti invece dalla Commissione europea i parametri di qualità ambientale per il PFOA, sebbene il suo profilo di pericolosità sia ben conosciuto: il PFOA è un composto persistente, bioaccumulativo e tossico (PBT), che può causare effetti severi e irreversibili sull'ambiente e sulla salute umana. Il PFOA ha una classificazione nell'*Annex VI della European Regulation* (EC) n.ro 1272/2008 sulla classificazione, etichettatura e confezionamento di sostanze e miscele (CLP).

In questo documento il PFOA è classificato come carcinogeno (Carc.2), tossico per la riproduzione (Repr. 1) e sono definite indicazioni per lo stoccaggio e la manipolazione, allo scopo di evitare danni epatici (Band STOT RE 1 - liver).

A causa delle sue proprietà di persistenza, bioaccumulo e tossicità (PBT), il PFOA e i suoi sali di ammonio (APFO) sono stati classificati tra le sostanze di rischio molto alto (*Substances of Very High Concern* - SVHC) nell'ambito della regolamentazione REACH, in virtù di un accordo unanime, intervenuto tra gli stati membri dell'Unione europea nel mese di luglio 2013.

Tuttavia, nonostante questa identificazione, la Commissione europea, al momento, non ha stabilito per PFOA e per altri PFAS alcun limite nell'ambiente acquatico.

Viceversa, esistono limiti diversi stabiliti da vari enti di controllo nazionali, che sono riportati di seguito¹⁶:

Limiti per le acque potabili:

- US- EPA (*Environmental Protection Agency* - Agenzia di protezione ambientale americana):

0.4 µg/l (400 ng/l) per PFOA e 0.2 µg /l (200 ng/l) per PFOS.

- UK HPA (*Health Protection Agency*)

10 µg/l (10.000 ng/l) per PFOA e 0.3 µg /l (300 ng/l) per PFOS)

- Department for Environmental Protection - New Jersey 0.04 µg /l (40 ng/l) per PFOA (dunque, ben più basso di quello fissato dall'EPA).¹⁷

¹⁶ cfr. Doc.1246/2 e Doc. 1535/2

1.1 Gli effetti tossicologici

1.1.1 Sugli animali

Gli studi tossicologici sui PFAS sono molto numerosi e, sebbene ancora non sufficientemente sistematici per permettere di giungere a delle affermazioni conclusive in termini di relazioni causa-effetto e di determinazioni quantitative sulle soglie minime di rischio, tuttavia, senza dubbio nel loro insieme, tali studi pongono in evidenza ragioni di preoccupazione circa la minaccia che questi inquinanti possono rappresentare per la salute di cittadini a seguito di esposizioni prolungate e, soprattutto, per concentrazioni elevate.

In particolare, per ovvi motivi, gli studi sono stati principalmente condotti su modelli animali. Gli studi diretti degli effetti sull'uomo sono, per lo più, basati su indagini epidemiologiche che, in molti casi, conducono a conclusioni contraddittorie, anche a causa della eterogeneità delle condizioni e dei campioni di popolazione analizzati.

Comunque, le ricerche sono abbastanza concordi nell'indicare una moderata tossicità acuta del PFOS e del PFOA e, perciò, si concentrano prevalentemente sugli effetti di tossicità subacuta e subcronica, che sicuramente sono più rilevanti.

In particolare, il professor Farinola osserva che gli studi di tossicità subacuta e subcronica di PFOA e PFOS condotti su animali modello (principalmente ratti e scimmie, talvolta pesci e polli) mostrano che i risultati dipendono significativamente dalla specie esaminata. Alcuni effetti, comuni a molti animali modello utilizzati, sono a carico del fegato, del metabolismo lipidico e del peso corporeo. E' stata inoltre riportata una incrementata mortalità degli individui. Negli animali modello più comunemente utilizzati (ratti e scimmie) i principali organi bersaglio sono il fegato e la tiroide, insieme al polmone e ai reni.

Gli effetti riscontrati sono altamente dose-dipendenti: ad esempio, in studi sui ratti sono stati definiti due limiti estremi: "assenza di effetti" (0.06 µg/kg BW/day) e "modifiche reversibili epatiche" (0.64 µg/kg BW/day). Le ricerche hanno anche dimostrato che il PFOS si accumula principalmente nel fegato e, a concentrazioni più basse, anche in altri organi quali milza, cuore e siero sanguigno.

Le conseguenze sugli animali sono varie e dipendono dalla specie esaminata.

¹⁷ La sigla "µg/l" indica la valutazione in microgrammi per litro, mentre la sigla "ng/l" indica la valutazione in nanogrammi per litro, mille "ng/l" costituiscono un "µg/l".

Gli studi sono stati effettuati, soprattutto, sui ratti e hanno posto in evidenza che PFOS e i PFOA sembrano non interferire con la riproduzione, né portare apprezzabili effetti teratogeni. Tuttavia, entrambe le sostanze mostrano tossicità nello sviluppo neonatale e prenatale, quando l'animale madre è stato esposto durante la gravidanza.

Questo può comportare ridotto peso nella prole dopo la nascita, riduzione del numero di nati vivi e della vitalità della progenie nei primi 5 giorni di vita.

In particolare, è stata rilevata una generale neurotossicità di PFOA e PFOS sui ratti.

La neurotossicità si manifesta come ridotta assunzione di cibo e diminuzione del peso corporeo, influenza sul ciclo ovarico e sulla concentrazione di corticosterone e leptina nel siero sanguigno.

E' stato anche riportato uno studio che mostra come l'effetto dei composti perfluorurati sui neuroni dell'ippocampo dei ratti dipende dalla lunghezza delle catene di atomi di carbonio delle molecole inquinanti. Altri effetti neurologici su ratti esposti a PFOS e PFOA si traducono in anomalie comportamentali quali, ad esempio, una ridotta o insufficiente adattabilità all'ambiente e una marcata iperattività e colpiscono la capacità di memoria e di ricognizione spaziale, anche a seguito di esposizione pre-natale. Inoltre, numerosi studi sugli effetti endocrini condotti sui ratti hanno mostrato alterazioni nelle concentrazioni degli ormoni tiroidei con effetti sulla temperatura corporea e sul battito cardiaco in questi animali. Sono anche stati riscontrati effetti a carico degli ormoni sessuali steroidei.

Ancora, l'assunzione di PFOA nei ratti conduce, oltre a una riduzione del peso corporeo, a una riduzione delle dimensioni del timo e della milza. D'altra parte, studi condotti su ratti femmina hanno mostrato una ridotta capacità di resistenza al virus influenzale e un aumento della mortalità, in seguito all'infezione. L'immunotossicità del PFOS si estende anche alla prole adulta di madri esposte a somministrazione orale di PFOS.

Viceversa, non vi è certezza, sugli effetti cancerogeni del PFOS e del PFOA, pur se sono stati descritti effetti di epatotossicità e carcinogenicità epatica e anche una maggiore incidenza di tumori di cellule pancreatiche. Al contrario, alcuni studiosi sono giunti alla conclusione che non si osserva maggiore incidenza di tumori alla mammella nei ratti dopo l'esposizione al PFOS.

Infine, vari studi in vivo e in vitro hanno mostrato che PFOS e PFOA non sembrano essere genotossici, né sembrano interferire con la riproduzione o portare apprezzabili effetti teratogeni.

1.1.2 Sull'uomo

Per quanto riguarda gli effetti sull'uomo, il professor Farinola, nella sua relazione, osserva che gli studi epidemiologici sono piuttosto limitati.

Parte di questi studi sono stati condotti su gruppi di persone con esposizione occupazionale. Questi per lo più sono consistiti in monitoraggi medici di operai in industrie fluorochimiche (compagnie 3M a Decatur, Alabama, USA e Anversa in Belgio). Studi di questo tipo non sono particolarmente significativi per analizzare gli effetti tossicologici di PFAS in popolazioni esposte alla contaminazione tramite uso di acqua potabile o alimenti inquinati in quanto si riferiscono a persone esposte a concentrazioni molto più elevate e, inoltre, sono campioni statisticamente non del tutto rappresentativi per età e sesso (per lo più maschi e in età lavorativa, quindi non bambini/ragazzi e anziani).

Viceversa, molto più limitati, anche se decisamente più significativi, sono gli esempi di studi epidemiologici relativi a popolazioni esposte per consumo di acqua potabile.

Vengono di seguito riportati a confronto due recenti studi epidemiologici, relativi a due casi di inquinamento da PFOA e PFOS di evidente interesse in questa relazione: il noto caso dell'Ohio, divenuto un caso di riferimento nella letteratura internazionale, e il caso della regione Veneto, analizzato nel parere dell'Istituto superiore di sanità (ISS) del 16 gennaio 2014.¹⁸

In realtà, l'unico studio epidemiologico, eseguito secondo regola, è quello denominato Progetto Salute C8 in Ohio, posto che si tratta di studio specifico, condotto mediante interviste e questionari e campioni di sangue da circa 69.000 soggetti residenti nei pressi dell'industria nel West Virginia.

Viceversa, come si vedrà di seguito, lo studio epidemiologico effettuato dall'ENEA, in collaborazione con l'Associazione dei medici per l'ambiente (ISDE Italia), non investe le patologie sub-letali, conseguenti all'ingerimento delle sostanze perfluoroalchiliche, ma si basa solo sui dati di mortalità delle popolazioni residenti nei comuni, che presentavano nelle acque potabili un superamento dei livelli di concentrazione di PFAS e PFOS, indicati dall'Istituto superiore di sanità, con i dati di mortalità delle popolazioni residenti nei comuni dove le analisi eseguite dimostravano l'assenza di inquinamento.

Lo studio epidemiologico statunitense costituisce il risultato di una azione legale collettiva (*class action*) intentata da una comunità della Mid Ohio Valley (USA), fortemente esposta a PFOA,

¹⁸ Doc. 1232/2
15

attraverso acqua potabile contaminata dall'industria chimica DuPont's West Virginia Washington, nel sud ovest di Parkersburg.

L'industria è stata responsabile di emissioni di PFOA nell'aria e di sversamenti nel fiume Ohio, a partire dagli anni cinquanta. Il PFOA così immesso nell'ambiente ha raggiunto riserve idriche di falda ed è stato riscontrato nel 2002. La *class action* operata dalla comunità contro la DuPont ha provocato un accordo transattivo nella Circuit Court Wood County.

Nell'ambito dell'insediamento anzidetto, la Brookmar Inc. ha condotto un'indagine durata un anno (agosto 2005/ luglio 2006), denominata progetto salute C8 (Health Project C8 HPC8).

Il progetto, come si è detto, ha raccolto informazioni attraverso interviste e questionari e campioni di sangue da circa 69.000 soggetti residenti nei pressi dell'industria in West Virginia. L'accordo ha stabilito, inoltre, la designazione di un *panel* di scienziati esperti di salute pubblica, allo scopo di valutare se vi fosse un probabile legame tra l'esposizione a PFOA ed effetti sanitari nella comunità.

Il *panel* di esperti, dopo la realizzazione degli studi epidemiologici e la valutazione della evidenza complessiva disponibile, a proposito di concentrazioni rilevate, ha prodotto una valutazione di "probabilità di associazione" tra l'esposizione al PFOA ed effetti sulla salute nella comunità del Mid Ohio, depositando alla fine presso la Corte di giustizia un dettagliato "*Rapporto di valutazione*", corredato da conclusioni sulla base delle evidenze disponibili.

In sintesi, le conclusioni dei rapporti di valutazione sugli effetti studiati sono nel senso che sussiste un'associazione probabile con l'esposizione a PFOA nella popolazione in studio per le seguenti malattie: ipercolesterolemia, colite ulcerosa, malattie tiroidee, tumori del testicolo e del rene, ipertensione indotta dalla gravidanza e preeclampsia.¹⁹

Inoltre, per il melanoma, il tumore della tiroide, il *panel* conclude che l'evidenza di un *link* con l'esposizione al PFOA è limitata e, pertanto, non è sufficiente a supportare una probabile associazione.

Nell'insieme, osserva il professor Farinola, tali studi indicano che gli organi *target* appaiono diversi negli animali e nell'uomo, pur se va segnalato che il pancreas è stato visto essere prone alla crescita cancerosa, a seguito di esposizione massiva e prolungata, sia negli umani che negli animali.

¹⁹ La preeclampsia, nota anche come gestosi, è una sindrome caratterizzata dalla presenza, singola o in associazione, di segni clinici quali edema, proteinuria o ipertensione in una donna gravida.

Più in generale, non esistono studi conclusivi che dimostrino epatotossicità nell'uomo e questo marca una notevole differenza con i modelli animali, nei quali il fegato è stato ravvisato come uno dei principali organi bersaglio.

Gli unici dati significativi, rinvenienti da uno studio generale su un campione di popolazione americana, sembrano associare elevati valori di PFOS e PFOA nel siero sanguigno con l'insorgenza di patologie tiroidee.²⁰

Infine, il professor Farinola ha citato alcuni numerosi esempi di studi più particolari allo scopo di dare un'idea della ampiezza dell'indagine, dell'incertezza dei risultati ma, comunque, del grado di preoccupazione che circonda questa classe di composti.

- A. Nel 2011 è stato riportato un primo studio sugli effetti neuropsicosomatici dell'esposizione ai PFAS nei bambini.²¹ Questo studio suggerisce un'associazione tra l'esposizione ai PFAS e l'impulsività. Sebbene i dati siano significativi, gli autori ritengono che sia necessario estendere lo studio a un campione più ampio.
- B. E' stato anche dimostrato che PFOA e PFOS possono indurre disfunzioni polmonari che esacerbano le iperresponsività delle vie respiratorie indotte da allergeni e infiammazioni.²²
- C. Un primo studio completo sull'effetto dell'esposizione ai PFAS sulla qualità dello sperma umano ha dimostrato che l'esposizione a PFOA è associata a deformazioni della morfologia degli spermatozoi.²³
- D. Uno studio, di cui si è già riferito, condotto dai sotto indicati ricercatori italiani (doc. 1245/2)²⁴ su un gruppo di 38 donne gravide residenti a Roma ha mostrato una correlazione tra la presenza di PFOS e PFOA nel sangue materno e in quello del

20 D.Melzer, N. Rice, M.H. Depledge, W.E. Henley, T.S. Galloway "Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey" *Environ. Health Perspect.* 2010, 118:686-692.

21 B.B.Gump, Q.Wu, A.K.Dumas, K.Kannan "Perfluorochemical (PFC) exposure in children: associations with impaired response inhibition" *Environ. Sci. Technol.* (2011) 45(19):8151-9.

22 M. H. Ryu, A. Jha, O. O. Ojo, T. H. Mahood, S. Basu, K. A. Detillieux, N. Nikoobakht, C. S. Wong, M. Loewen, A. B. Becker A.J. Halaiko "Chronic exposure to perfluorinated compounds: Impact on airway hyperresponsiveness and inflammation" *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* (2014) 307(10):L765- 74.

23 G.M. Buck Louis, Z. Chen, E. F. Schisterman, S. Kim, A. M. Sweeney, R. Sundaram, C. D. Lynch, R. E. Gore-Langton, D. Boyd Barr Perfluorochemicals and human semen quality: the LIFE study" *Environ. Health Perspect.* (2015) 123(1):57-63.

24 M.G. Porpora, R. Lucchini, A. Abballe, A.M. Ingelido, S. Valentini, E. Fuggetta, V. Cardi, A. Ticino, V. Marra, A.R. Fulgenzi, E. De Felip "Placental Transfer of Persistent Organic Pollutants: A Preliminary Study on Mother-Newborn Pairs" *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2013), 10, 699.

cordone ombelicale del nascituro, dimostrando di fatto un passaggio degli inquinanti dalla madre al figlio.

Anche il direttore generale della prevenzione sanitaria presso il Ministero della salute, Raniero Guerra, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016, ha riferito del noto studio del Mid-Ohio Valley, dove la DuPont era stata ritenuta responsabile dell'immissione nell'ambiente di PFOA, con la conseguente contaminazione di circa 70.000 persone.

Il dottor Guerra ha ribadito quanto sopra riportato e, cioè, che si tratta del principale studio di riferimento per quanto riguarda il collegamento con un danno anatomico e fisiologico, che mette in evidenza i PFOA con correlazioni patologiche relative a un'ipercolesterolemia, a manifestazioni di colite ulcerosa, a patologie tiroidee, a tumori del testicolo e del rene, a ipertensione in gravidanza e preeclampsia.

Queste sono le condizioni cliniche correlate a un'elevata presenza accumulata di queste sostanze.

Ha ricordato ancora il dottor Guerra che vi è poi un altro studio di discreto interesse, pur se, come si è sopra detto, di dimensioni molto limitate, compiuto a Tarragona in Spagna, in cui risulta dimostrato un accumulo degli PFAS, a catena corta, in fegato, polmoni, ossa, rene e orso cervello su materiale autoptico derivato da una settantina di cadaveri. In questo caso, quindi, vi è un'evidenza montante, ma non ancora definitiva, soprattutto non dose-collegata, che ha investito non i composti perfluoroalchilici a catena lunga, bensì quelli a catena corta. In questo caso non è stato stabilito un nesso quantitativo e un valore soglia.

Ancora, il dottor Guerra ha riferito che, nel mese di maggio del 2014, la regione Veneto aveva stipulato un accordo di collaborazione con l'Istituto superiore di sanità per arrivare alla determinazione quantitativa e qualitativa dell'inquinamento nelle zone di concentrazione, sia per quanto riguarda la filiera idropotabile, sia per quanto riguarda la matrice ambientale.

A seguire, nel 2016, lo studio è stato esteso alle matrici alimentari ed è in fase di costruzione e di attività. La fase dello studio di biomonitoraggio si è conclusa il 18 aprile 2016 e l'Istituto superiore di sanità ha trasmesso alla regione Veneto i risultati e le prime elaborazioni relative alla determinazione della concentrazione di biomarcatori e l'analisi genetica di una variante allelica del trasportatore renale, in qualche modo coinvolto nel metabolismo dei PFAS.²⁵

Lo studio ha avuto l'obiettivo di caratterizzare l'esposizione a sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in soggetti residenti in aree di alcune province del Veneto interessate da presumibile esposizione

²⁵ Doc. 1532/2

incrementale a questi inquinanti rispetto ad altri gruppi di popolazione di controllo residenti in aree geografiche del Veneto non esposte a PFAS.

Gli esiti dello studio non fanno emergere niente di nuovo rispetto ad altri studi internazionali più vasti e più approfonditi, come - per esempio - quello condotto sulla popolazione esposta ad acqua contaminata, residente in 6 diversi distretti del West Virginia e dell'Ohio, però confermano che le acque sono la principale via di esposizione ai PFAS e che la popolazione esposta ha un livello di sostanze perfluoroalchiliche nel sangue molto più alto rispetto ai soggetti non esposti.

A questo punto, la regione Veneto ha comunicato allo stesso Ministero la propria intenzione di aprire un secondo accordo di collaborazione con l'Istituto, per quanto riguarda l'identificazione delle matrici alimentari, fonte di notevoli preoccupazioni, essendo forte il dubbio che i PFAS - oltre che come già acclarato per le uova - entrino anche nel ciclo di produzione del vino, quindi nella contaminazione dell'uva, dato particolarmente rilevante dal punto di vista della produzione agricola e del valore aggiunto dell'esportazione e del consumo di vino nel vicentino.

A sua volta, Marina Mastrantonio, rappresentante di ENEA, nel corso della stessa audizione del 6 luglio 2016, ha riferito:

- 1) che i PFAS rappresentano una classe emergente di inquinanti ambientali, ubiquitari, altamente persistenti e rilevabili in tutte le matrici, acqua, aria e suolo;
- 2) che sono soggetti a bioaccumulo lungo la catena alimentare e che il tempo di dimezzamento nell'uomo è compreso tra 2 e 9 anni;
- 3) che, nel 2009, il PFOS è stato inserito nell'elenco degli inquinanti organici persistenti, cosiddetti POP, come da allegato B della Convenzione di Stoccolma;
- 4) che, per quanto riguarda le vie di esposizioni, la principale per l'uomo è rappresentata dall'ingestione di acqua potabile e di cibo contaminati;
- 5) che tali sostanze non possono essere metabolizzate dai mammiferi, ma solo eliminate mediante escrezione e possono attraversare la barriera placentare e che, all'interno del corpo dei mammiferi, si legano alle proteine e si distribuiscono principalmente nel siero del sangue, nei reni e nel fegato e sono stati rilevati anche nel latte materno;
- 6) che l'esposizione prenatale è attualmente considerata particolarmente rischiosa per i possibili effetti tossici, in quanto lo sviluppo embrionale rappresenta una delle fasi più critiche, più suscettibili.

Ancora, ha proseguito la rappresentante dell'ENEA, l'esposizione cronica a PFOS e PFOA è in grado di indurre tumore al fegato nei ratti, ma fino ad ora solo il PFOA è stato classificato dall'*International Agency of Research on Cancer*, lo IARC, come possibile cancerogeno per l'uomo e inserito appunto nel gruppo 2B.

Gli studi effettuati su popolazioni esposte a PFAS, soprattutto attraverso la contaminazione di acqua potabile, indicano delle associazioni tra PFOS o PFOA e, per esempio, la riduzione della fertilità sia maschile sia femminile, la ipercolesterolemia, l'alterazione dei livelli degli ormoni tiroidei, il disturbo da deficit di attenzione e iperattività, anche se alcune evidenze sono controverse tra i vari studi.

Nelle popolazioni residenti in aree altamente contaminate e nei lavoratori esposti professionalmente sono stati rilevati associazione con l'ipertensione in gravidanza, aumenti del livello di acido urico, arteriosclerosi, ischemie cerebrali e cardiache, infarto miocardico acuto e diabete.

Per quanto riguarda le patologie tumorali, soprattutto nelle popolazioni professionalmente esposte, sono stati evidenziati incrementi del rischio per il tumore del testicolo, del rene, della vescica, di prostrata, ovaio, mammella, fegato, pancreas, linfoma non Hodgkin, leucemia e mieloma multiplo.

La dottoressa Mastrantonio si è infine soffermata su uno studio eseguito nell'anno 2015 dall'ENEA, in collaborazione con l'Associazione dei medici per l'ambiente, l'ISDE, che si è basato sui dati relativi alla qualità delle acque dell'ARPA Veneto.²⁶

Lo studio ha coinvolto 70 comuni delle province di Vicenza, Padova, Verona e Rovigo, con l'esclusione dei comuni capoluogo.

Sono state individuate diverse aree: una prima area, costituita da 24 comuni, in cui la regione Veneto nella sua pubblicazione indica quali sono i comuni che hanno superato i livelli di *performance* per i PFAS nelle acque potabili (30 nanogrammi per litro, per PFOS, 500 nanogrammi per litro per PFOA e 500 nanogrammi per litro per gli altri PFAS); una seconda area che presenta livelli PFOS superiori a quelli di *performance*, cioè 30 nanogrammi per litro, e comprende 19 comuni; una terza area, che è servita da riferimento come controllo, con assenza di contaminazione da parte di queste sostanze. In questi ultimi comuni le misure, per quanto riguarda i PFAS, sono assenti.

²⁶ Doc. 1383/1

E' stato esaminato lo stato socio-economico dei residenti di ciascun comune, perché in epidemiologia questo parametro influenza lo stato di salute delle popolazioni e viene misurato attraverso l'“indice di deprivazione”.

I comuni inclusi nello studio dell'ENEA hanno una notevole omogeneità, per quanto riguarda tale parametro, poiché la maggior parte di essi appartiene al gruppo “molto ricco” o al gruppo “ricco”, e solo due dei 70 comuni della zona contaminata sono stati classificati nel gruppo “medio” e “deprivato”.

Lo studio è stato svolto utilizzando la banca dati epidemiologica dell'ENEA, che contiene i dati di mortalità di fonte ISTAT relativi a tutto il territorio italiano a livello comunale codificati secondo le classificazione internazionali delle malattie, le varie versioni dell'ECD, i censimenti decennali delle popolazioni e le loro interpolazioni annuali.

Quelli utilizzati sono dati di mortalità, gli unici dati sanitari immediatamente disponibili per tutti i comuni italiani. Invero, il quadro delle cause di morte viene considerato un indicatore dello stato di salute dei residenti, che ovviamente può essere influenzato anche da diversi fattori confondenti, come la suscettibilità individuale, lo stile di vita, le condizioni socio-economiche, la mobilità delle popolazioni.

Nello studio dell'ENEA sono stati presi in considerazione un certo numero di patologie, selezionate proprio sulla base delle associazioni emerse dalla letteratura scientifica tra esposizione a PFAS e condizioni patologiche.

Sono la mortalità in via generale, nonché, in particolare, la mortalità correlata con il tumore del fegato, il tumore del rene, il tumore della vescica, del pancreas, le leucemie, i linfomi non Hodgkin, il mieloma multiplo, il tumore della mammella, il tumore alle ovaie, il tumore al testicolo, il tumore della prostata, il diabete, le malattie cerebrovascolari, l'infarto miocardico acuto, la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson.

Per ogni causa di morte lo studio ha calcolato i decessi, i tassi standardizzati diretti e i rischi relativi, sia negli uomini sia nelle donne, per il periodo 1980-2011, con l'esclusione del 2004-2005, perché sono non disponibili da ISTAT.

Tuttavia tale studio presenta chiari limiti in quanto riguarda patologie a eziologia multipla, che possono essere ascritte anche ad altre esposizioni, legate agli ambienti, sia di vita sia di lavoro, oltre che alla suscettibilità individuale, dati tutti che non è possibile discriminare nell'ambito di uno studio geografico descrittivo.

Fatte tali premesse, alla stregua del documento prodotto²⁷, la rappresentante dell'ENEA ha rilevato che nei comuni contaminati da PFAS vi sono degli eccessi statisticamente significativi della mortalità per alcune cause che non andrebbero sottovalutate, dal momento che la letteratura scientifica suggerisce una possibile associazione tra queste patologie e l'esposizione a PFAS.

In particolare, nei comuni contaminati da PFAS si registrano in entrambi i sessi eccessi statisticamente significativi per la mortalità generale: un 9 per cento e un 10 per cento in più, rispettivamente, negli uomini e nelle donne. Per le malattie cerebrovascolari, vi è un 22 e un 18 per cento in più, rispettivamente, negli uomini e nelle donne. Per l'infarto miocardico acuto, vi è un 11 e un 14 per cento in più, rispettivamente, per uomini e donne. Nelle sole donne, invece, si sono rilevati eccessi significativi anche per il diabete, con un 32 per cento in più, e per la malattia di Alzheimer, mentre nei uomini vi è una minore mortalità per tumore del fegato, quindi con un RR inferiore a 1 statisticamente significativo.²⁸

Questi dati riguardano la zona con superamento PFAS.

I dati contenuti nella tabella 2, allegata alla presente relazione, si riferiscono ai comuni in cui è stato indicato un superamento del PFOS, un sottogruppo di comuni rispetto a quello precedente.

In entrambi i sessi sono stati riscontrati eccessi statisticamente significativi per la mortalità generale, per le malattie cerebrovascolari, per l'infarto miocardico acuto. Nelle donne, eccessi per il diabete, per la malattia di Alzheimer e per il tumore del rene. Inoltre, come nel caso dell'esposizione a PFAS, anche per il PFOS, vi è una minore mortalità maschile per il tumore del fegato.

Infine è stato registrato anche un eccesso di mortalità per diabete, molto vicino alla significatività sia nei comuni contaminati da PFAS, sia nel sottogruppo con esposizione a PFOS.

In conclusione, da questo studio emerge che nei comuni contaminati da PFAS vi sono degli eccessi statisticamente significativi della mortalità per alcune cause, che andrebbero valutate con attenzione, in quanto la letteratura scientifica suggerisce una possibile correlazione tra queste patologie e l'esposizione a PFAS. La rappresentante dell'ENEA ha però sottolineato che lo studio epidemiologico effettuato è inidoneo a dimostrare nessi causali tra l'esposizione alle sostanze in questione e gli effetti rilevati poiché si tratta di studio su base geografica, e quindi, solo descrittivo.

²⁷ Doc. 1383/1

²⁸ Cfr. tabella 1 Doc. 1383/1 allegato 1 alla presente relazione.

Inoltre, la dottoressa Mastrantonio ha rilevato che i PFAS sono responsabili anche di patologie a bassa letalità, non mortali e, dopo aver rilevato che uno studio basato solo sui dati di mortalità non può essere esaustivo per valutare l'impatto sanitario di questi inquinanti, ha concluso che sarebbe opportuno:

- A. approfondire le indagini, mediante impiego di flussi sanitari di incidenza di patologie, come le schede di dimissione ospedaliera, i dati del registro tumori e quelli del registro delle malformazioni congenite, che sono presenti in Veneto;
- B. procedere con indagini di tipo analitico, impiantando per esempio degli studi di corte specifici sulle popolazioni residenti nella zona in esame.

Sul punto concernente gli effetti sulla salute umana delle sostanze perfluoroalchiliche, nell'audizione del 6 luglio 2016, è stato sentito anche il dottor Edoardo Bai della sezione ISDE - Associazione medici per l'ambiente - Milano il quale, nel confermare i dati offerti dallo studio dell'ENEA, ha riferito che sugli effetti cancerogeni dei composti perfluoroalchilici non sono state raggiunte certezze scientifiche, mentre l'effetto principale di dette sostanze - che nessuno mette in dubbio, perché già abbondantemente dimostrato - è quello di essere interferenti endocrini.

I danni causati dagli interferenti endocrini sono quelli legati all'attivazione del metabolismo e all'interferenza sul sistema ormonale, già nell'utero.

In particolare, nell'utero si hanno due effetti principali, di cui uno sul sistema sessuale. Di solito, sono degli estrogeni che hanno un'azione di estrogenico, qualcuno anche androgenico, come la diossina. Nascono, infatti, più femmine che maschi a Seveso proprio per quest'attività.

Il secondo effetto, più preoccupante, è che agisce sulla tiroide, essenziale per lo sviluppo del sistema nervoso dei bambini in utero, dando delle alterazioni.

Ancora - ha proseguito il dottor Bai, al fine di dare un'idea della gravità della situazione dei territori contaminati - i PFAS, senza distinzione alcuna tra quelli a 8 atomi di carbonio e quelli a 4 atomi, sono esattamente come la diossina, un po' meno tossici, nel senso che la loro tossicità si misura in nanogrammi, che però vuol dire milionesimi di grammi, mentre quella della diossina si misura in picogrammi, mille volte inferiore. Quella del cromo o degli altri cancerogeni, si misura in microgrammi, quindi, mille volte meno tossici di questi composti.

Quindi, il dottor Bai ha rappresentato la necessità di una indagine sull'incidenza delle malattie che non causano la morte, come le alterazioni della tiroide, le malformazioni dei bambini e il diabete.

Tanto più - ha concluso il dottor Bai - alla luce degli esiti di una indagine sugli operai della Miteni, eseguita dal professor Giovanni Costa della Clinica del Lavoro di Milano, che ha consentito di rilevare livelli di PFAS nel sangue di 90.000 ng/l, nonché due alterazioni tipiche per l'effetto induttore enzimatico di queste sostanze, ossia la glicemia alta, il diabete, e la colesterolemia alta, con conseguenti gravi rischi di accidenti cerebrovascolari e di infarto.

Inoltre, la Commissione ha acquisito uno "Studio sugli esiti materni e neonatali in relazione alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (Pfas)", a cura del Registro Nascita - Coordinamento malattie rare regione Veneto²⁹, che ha preso in considerazione il periodo compreso tra il 2003 e il 2015.

Dallo Studio delle popolazioni dei 21 comuni più esposti ai PFAS delle province interessate (Vicenza, Verona e Padova), facenti parte della cosiddetta "area rossa", confrontate con le popolazioni meno esposte o non esposte degli altri comuni della regione Veneto, emerge, in percentuali significative, l'incremento della preeclampsia, del diabete gestazionale, dei nati con peso molto basso alla nascita, dei nati SGA e di alcune malformazioni maggiori, tra cui anomalie del sistema nervoso, del sistema circolatorio e cromosomiche. Va osservato che le malformazioni sono eventi rari che necessitano di un arco temporale di valutazione più esteso per giungere a più sicure affermazioni.

Nello studio anzidetto viene posto in evidenza il fatto che riguardo al diabete gestazionale è stato rilevato un evidente gradiente di rischio, che si riduce progressivamente allontanandosi dall'area rossa.

Per confermare l'esistenza di un nesso causa-effetto è necessario disporre dei dati di biomonitoraggio e di esposizione sui singoli individui.

Dall'analisi effettuata emergono quindi indicazioni che suggeriscono la necessità di ulteriori approfondimenti.

Quanto ai limiti di presenza delle sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) nell'organismo umano, va ribadito che non vi sono tra i vari enti internazionali indirizzi e metodi di rilevazione univoci.

Tuttavia, il professor Farinola, nella sua relazione³⁰, richiama le principali agenzie internazionali di valutazione e, in particolare:

- EFSA (Environmental and Food Safety Agency), che indica i seguenti valori:

²⁹ Doc. 1679/2

³⁰ Doc. 1535/2

1.5µg/KgBW (1500 ng/KgBW) per PFOA:

0.5 µg/KgBW (500 ng/kgBW) per PFOS.

- UK COT (UK Committee on Toxicity), che indica i seguenti valori:

3.0 µg/KgBW (3000 ng/kgBW) per PFOA;

0.3 µg/KgBW (300 ng/KgBW) per PFOS.

- Trinkwasserkommission (Agenzia per l'acqua potabile tedesca)

0.1 µg /Kg BW (100 ng/KgBW) per PFOA;

0.1 µg /Kg BW (100 ng/KgBW) per PFOS.

2. La situazione italiana

In Italia non esiste una concentrazione massima ammissibile in acqua potabile di PFOA, PFOS ed altri PFAS.

Nell'audizione del 25 maggio 2016, davanti alla Commissione parlamentare di inchiesta, i rappresentanti del Consiglio nazionale delle ricerche (CNR), Stefano Polesello e Giuseppe Mininni, hanno confermato che, tra i PFAS, i composti più pericolosi sono il PFOS e il PFOA.

Tali composti sono stati inseriti dalla Comunità Europea tra le sostanze prioritarie da tenere sotto controllo per la loro pericolosità, in quanto, come si è detto, vengono considerate sostanze accumulabili PBT (*Persistent, Bioaccumulable and Toxic*).

In particolare per il PFOA, dapprima sospeso con decisione volontaria dei produttori, è intervenuto nel 2006 il divieto di uso, mentre per il PFOS la Commissione europea, dopo averlo qualificato come sostanza altamente prioritaria e pericolosa (PP), che tende ad accumularsi nell'organismo, l'ha inserito nella direttiva n. 39 del 2013, entrata in vigore il 13 settembre 2013, che è stata poi recepita nel decreto legislativo n. 172 del 2015.

Tuttavia - come ha ricordato il dottor Giuseppe Mininni, altro rappresentante del CNR nel corso della citata audizione del 25 maggio 2016 - il recepimento nel nostro ordinamento della direttiva europea non implica che gli *standard* di qualità (SQA) delle acque superficiali, con particolare riguardo alla presenza del PFOS, siano immediatamente applicabili.

Invero, la disciplina anzidetta prevede che per queste sostanze, gli *standard* di qualità si applichino a partire dal 22 dicembre 2018, sicché soltanto a partire da tale data, si deve prevedere una progressiva riduzione delle emissioni di queste sostanze nelle acque superficiali, fino a raggiungere progressivamente un buono stato chimico di tali acque entro 9 anni, cioè, entro la fine del 2027.

Questo vale per le sostanze presenti nella tabella 1/A dell'allegato 1 alla parte terza del decreto legislativo n. 152 del 2006, che contiene l'elenco delle sostanze prioritarie pericolose, tra cui il PFOS.

In effetti, il decreto legislativo n. 172 del 2015 ha inciso fortemente sull'articolato del decreto legislativo n. 152 del 2006, in particolare, sull'articolo 78, che ha fissato termini vari sia per l'eliminazione delle sostanze pericolose prioritarie, individuate con la sigla PP, sia per la graduale riduzione delle sostanze prioritarie, individuate come P.

Il dottor Polesello ha poi chiarito il valore di queste tabelle 1/A e 1/B.

Invero, nell'architettura della direttiva quadro sulle acque del legislatore europeo, inserita nel testo unico ambientale, non esistono più i limiti agli scarichi, che sono solo degli strumenti, ma esiste solo il raggiungimento dell'obiettivo di qualità nel corpo idrico superficiale.

La qualità del corpo idrico superficiale, rinviata al 2017, per tutti i corpi idrici italiani, è determinata dallo stato chimico, definito dalla *compliance*, cioè dalla conformità delle concentrazioni nel fiume con i valori della tabella 1/A, le sostanze proprietarie, dove sono inclusi solo il PFOS, il PFOA e altri 4 PFAS.

Vi è poi la conformità con lo stato ecologico, che richiede anche la conformità con una serie di sostanze a livello locale, incluse per l'Italia nella tabella 1/B.

La tabella 1/B, incluso il PFOA, concorre quindi al raggiungimento dello stato di qualità ecologico buono, mentre la tabella 1/A, quindi il PFOS, concorre allo stato chimico buono.

Si tratta di una discrepanza, una dicotomia nata dalla costruzione della direttiva quadro europea n. 2013/39 UE, che ha creato parecchia confusione. Questo fa sì anche che le frequenze del monitoraggio siano diverse: per la tabella 1/A è mensile, mentre per la tabella 1/B è trimestrale.

Come ha puntualmente riferito dottor Stefano Polesello nel corso della sua audizione,³¹ “il tutto, però non è più demandato allo Stato, ma al distretto idrografico, l'organo che per la direttiva quadro, una volta verificata la non conformità chimica o ecologica, deve determinarne le cause,

³¹ Pagina 8 del resoconto stenografico numero 102 del 25 maggio 2016

effettuando le analisi delle pressioni e degli impatti e utilizzando i dati di monitoraggio sia chimico, sia ecologico. In funzione di ciò, le regioni sono chiamate ad adottare un piano di misure, tra cui quella di fissare limiti allo scarico, cosiddetto *emission limit value*. Lo scarico non è più, quindi, un oggetto nazionale, appunto un valore fisso limite, ma uno strumento che il distretto idrografico (che si rifà alle regioni, che hanno la capacità di spesa, con i piani di tutela delle acque regionali) deve integrare all'interno del piano, qualora verifichi una non conformità per quelle sostanze. E' uno strumento duttile, tanto che la Commissione europea ha rifiutato la proposta di alcuni Stati membri di una metodologia predeterminata per i limiti agli scarichi. L'obiettivo del limite allo scarico non è più un dato fisso, dal momento che ciò che la normativa intende tutelare è la qualità dell'acqua, sicché è necessario impedire che venga scaricata una quantità/qualità di scarichi da tutte le fonti di pressione, tale da generare una non conformità del corpo idrico recettore”.

Il dottor Polesello ha concluso che deve parlarsi non di **sito** contaminato, bensì di **sito** che non raggiunge lo stato di qualità buono.

Tutto ciò osservato in via generale, il dottor Polesello ha riferito che, essendo venuto a conoscenza del fatto che il PFOA veniva prodotto da una ditta non italiana, in quel periodo di proprietà dei giapponesi della Mitsubishi, la Miteni di Trissino, egli stesso, nell'anno 2012, accompagnato dai funzionari dell'ARPA Veneto, si era recato con i suoi colleghi nella fabbrica anzidetta e aveva effettuato il campionamento degli scarichi dei depuratori e di tutti i corpi idrici dello stabilimento industriale.

Le indagini svolte hanno consentito di appurare che, in effetti, la Miteni era la sorgente di tali sostanze perfluoroalchiliche, in quanto l'azienda - insediata in area di ricarica di falda, in presenza di un acquifero indifferenziato - produceva non solo il PFOA, ma anche un'altra sostanza a catena più corta, il perfluorobutansolfonico (PFBS), che aveva sostituito il PFOS.

I tecnici del CNR, a partire dal 2012, hanno consegnato ogni anno i dati parziali e progressivi al Ministero dell'ambiente, che chiedeva anche la possibilità di valutare il rischio di esposizione umana.

Le relative indagini sono state dal CNR eseguite attraverso due elementi: l'acqua potabile nelle zone che erano state individuate come più a rischio e l'accumulo all'interno dei mitili che venivano allevati nella zona delle lagune, il delta del Po e la laguna di Venezia.

Campionando l'acqua potabile a rubinetto, non l'acqua di falda, ma alle fontanelle pubbliche di acqua potabile del Veneto, tra la fine del 2012 e l'inizio del 2013, erano risultati valori anomali.

A questo punto, il Ministero dell'ambiente aveva sollecitato al CNR un'altra campagna di misura più articolata di conferma.

I dati sono stati consegnati nel mese di marzo 2013 allo stesso Ministero dell'ambiente, che nel successivo mese di aprile ha comunicato i dati rilevati alla regione Veneto.

Quindi, dopo una riunione svoltasi a Roma in data 23 maggio 2013 tra i rappresentanti del CNR, del Ministero dell'ambiente, dell'ARPA Veneto e della regione Veneto, per l'esame dei risultati di questa campagna analitica, contenuti nel doc. 1248/2, la regione Veneto ha incaricato ARPA Veneto di effettuare una campagna di monitoraggio.

Il CNR ha fornito tutti gli strumenti, fisicamente, gli *standard* e i materiali utili a mettere a punto il metodo analitico che l'ARPA Veneto non possedeva.

Il monitoraggio eseguito dall'Agenzia è consistito, dapprima, nel ripetere esattamente l'esame dell'acqua delle fontanelle, già analizzata dai tecnici del CNR, quindi, nell'ampliare le indagini fino a determinare e concludere che effettivamente la situazione non riguardava solo l'inquinamento di acque superficiali, ma soprattutto l'inquinamento dell'acqua di falda, utilizzata nella fornitura della rete idrica pubblica, oltre che in agricoltura per l'irrigazione dei campi e l'abbeveraggio degli animali.

La situazione viene costantemente controllata dalla regione e dall'ARPA, che hanno proseguito i vari monitoraggi, che ancora continuano, i cui dati sono pubblici e pubblicati sul sito di ARPA Veneto.

A questo punto, il problema è stato quello di fissare i limiti nelle acque superficiali.

Il Dipartimento delle acque interne del Ministero dell'ambiente ha incaricato il CNR di formare un gruppo di lavoro con ISPRA e l'Istituto superiore di sanità, al fine di stabilire gli *standard* di qualità delle acque superficiali e sotterranee per un *set* di queste sostanze.

La regione Veneto è stata ammessa a partecipare a tale gruppo di lavoro ad agosto 2016.

Il gruppo di lavoro, coordinato dallo stesso dottor Polesello, insieme al dottor Valsecchi, con la collaborazione dei ricercatori del CNR IRSA e degli altri istituti (ISPRA e ISS) in circa un anno di lavoro, ha elaborato - utilizzando una metodologia armonizzata a livello europeo - gli *standard* di qualità per 5 sostanze selezionate in base a quelle di maggiore ritrovamento: PFBA e PFBS (entrambi a 4 atomi di carbonio), PFPeA (5 atomi di carbonio), PFHxA (6 atomi di carbonio) e PFOA (8 atomi di carbonio).

Le modalità con cui questi valori sono stati derivati sono illustrate nella relazione tecnica finale del Gruppo di Lavoro (doc.1515/2 e doc. 1248/2) e discussi in un articolo scientifico pubblicato su rivista interazionale (Journal of Hazardous Materials, 2016).³²

La tabella seguente riporta la sintesi dei valori proposti dal gruppo di lavoro:

Inquinante	SQUA-MA (Standard di Qualità Ambientali) acque superficiali interne (ng/l)	Valore soglia acque sotterranee (ng/l)	Valore soglia acque sotterranee in interazione con acque superficiali (ng/l)
PFBA	7000	-	-
PFBS	3000	3000	3000
PFPeA	3000	3000	3000
PFHxA	1000	1000	1000
PFOA	100	500	100
PFOS (sostanza prioritaria)	0,65		

Per il PFOS è stato recepito quanto stabilito dalla direttiva 2013/39/UE.

Questi valori, che rappresentano solo una parte delle sostanze PFAS, sono stati poi inseriti nel decreto legislativo n. 172 del 2015, di recepimento della direttiva europea n. 39 del 2013, come ha riferito la dottoressa Gaia Checcucci, direttrice generale per la salvaguardia del territorio e delle acque del Ministero dell'ambiente, nel corso dell'audizione del 26 maggio 2016.

In questo decreto è stato recepito anche lo *standard* di qualità europea del PFOS, considerato sostanza prioritaria, perché già inserita nel processo di prioritizzazione.

Questi *standard* di qualità (SQA), prima della loro pubblicazione, sono stati validati all'interno di un contesto europeo e pubblicati su una rivista scientifica.

³² S. Valsecchi, D. Conti, R. Crebelli, S. Polesello, M. Rusconi, M. Mazzoni, E. Preziosi, M. Carere, L. Lucentini, E. Ferretti, S. Balzamo, M.G. Simeone, F. Aste "Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids" Journal of Hazardous Materials , 2016

29

3. Il monitoraggio dei lavoratori della Miteni

Sulla base delle suddette informazioni, la Commissione di inchiesta ha acquisito notizie dal professor Giovanni Costa dell'Università di Milano³³ il quale, in data 23 novembre 2016, ha inviato al Presidente della Commissione di inchiesta una relazione sul monitoraggio biologico di PFOA e PFOS da lui effettuato - verosimilmente, su incarico della Miteni - su 128 lavoratori della Miteni, presso lo stabilimento di Trissino, nell'anno 2016, e sul confronto con gli anni precedenti, a partire dall'anno 2000.³⁴ Ciò nell'ambito delle relazioni annuali concernenti le attività di sorveglianza sanitaria, ai sensi del decreto legislativo n. 81 del 2008 e successive modifiche e integrazioni, relativo al testo unico in materia di salute e sicurezza nei luoghi di lavoro (noto anche con l'acronimo TUSL).

Le indagini del professor Costa partono dal presupposto che, a livello di legislazione vigente, non vi sono limiti codificati per PFOA e PFOS.

Quindi il professor Costa riporta alcuni limiti di riferimento a livello europeo e sono i seguenti:

PFOA

BAT (2006) valore limite biologico per esposizioni professionali: 5.000 µg/l (5.000.000 ng/l nel siero (The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations 2015, DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft © 2015 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA);

DNEL (Derived No Effect level) per i lavoratori esposti: 2000 µg/l nel siero (2.000.000 ng/l),
per i consumatori: 800 µg/l /l nel siero (800.000 ng/l)

proposto nel Chemical Safety Report (REACH, Annex I) nel 2008 da parte dei produttori europei con il supporto dell'UBA (German Institute for Occupational Safety and Health (BAuA) and the German Institute for Risk Assessment (BfR).

PFOS

BAT (2010) valore limite biologico per esposizioni professionali: 15.000 µg/l nel siero (15.000.000 di ng/l).

³³ Prof. Giovanni Costa - Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano, Direttore Dipartimento di Medicina Preventiva, Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico Presidente Corso di Laurea Magistrale in Scienze Sanitarie della Prevenzione Via S. Barnaba, 8 cap 20122 Milano

³⁴ Doc. 1578/2. Le tabelle contenute nel documento e citate nella relazione sono state riportate in allegato.

The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations 2015, DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft ©2015 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA).

In base al programma di monitoraggio biologico annuale 128 lavoratori sono stati sottoposti a controllo nel marzo-aprile 2016. Essi costituiscono tutti i dipendenti attualmente in attività presso lo stabilimento di Trissino, in particolare:

- 12 lavoratori tuttora presenti nel reparto di produzione perfluorurati (esposti);
- 14 lavoratori che precedentemente hanno lavorato in tale reparto e trasferiti nel corso degli anni in altri reparti per esigenze produttive (Ex-Esposti);
- 81 operatori degli altri reparti o servizi (fluoroaromatici, benzotrifluoruri, impianto pilota, manutenzione, laboratori, ingegneria, hse, magazzini) con possibile precedente contatto nelle zone di produzione di PFOA;
- 21 lavoratori operanti negli uffici.

La relazione del professor Giovanni Costa si sviluppa in 10 tabelle, nelle quali sono rappresentati i valori del PFOA e del PFAS espressi in microgrammi per litro di sangue dei lavoratori, a seconda dei reparti in cui sono addetti, nonché l'andamento delle misurazioni nel corso degli anni, effettuato sia per gruppi di lavoratori esposti, sia per periodi compresi tra i 2 e i 5 anni, accompagnati dall'indicazione delle quantità minime, massime e dalla media delle suddette sostanze perfluoroalchiliche.

La finalità dichiarata e rappresentata in tale relazione è quella di dimostrare che, nel corso degli anni, vi è stata una costante diminuzione delle quantità di PFOA e di PFAS, presenti nel siero dei dipendenti della Miteni.

Tutto ciò precisato, va evidenziato come i valori di riferimento indicati dalle fonti proposte dal professor Costa sui limiti nel siero del PFOA e del PFOS sono estremamente alti. Per rendere apprezzabile al lettore con un esempio il confronto con i valori sin qui menzionati nella relazione (ad esempio, i valori limite fissati da vari enti internazionali riportati nel precedente capitolo), prevalentemente esposti in termini di microgrammi per chilogrammi di peso corporeo ($\mu\text{g}/\text{KgBW}$), si può effettuare la conversione approssimativa per il limite di $5.000 \mu\text{g}/\text{l}$ (The Mak Collection 2015) come segue. Stimando un individuo medio del peso di 70 Kg, che ha 5 l di sangue, il valore $5000 \mu\text{g}/\text{l}$ si traduce come segue: $5.000 \mu\text{g}/\text{l} \times 5 \text{ l} = 25.000 \mu\text{g}$ in totale nell'individuo; quindi, dividendo i 25000 μg nell'individuo per il suo peso corporeo di 70 kg si ottiene il risultato di

357,143 µg/kgBW che si traducono in 357.143 ng/KgBW che, come si vede, è una quantità molto grande, specie in confronto ai limiti riportati nel capitolo precedente.

Oltre a questo confronto approssimativo, ma efficace nel dare l'idea delle elevatissime concentrazioni ematiche considerate come limite accettabile nei lavoratori esposti, giova anche evidenziare come i valori medi per i lavoratori esposti, riportati nelle tabelle 2-8, superano i valori limite proposti da almeno una (2.000 µg/l - Chemical safety report REACH 2008), e spesso entrambe (5.000 µg/l, The Mak Collection 2015) le soglie definite nei documenti citati dallo stesso professor Costa.

Invero, i controlli indicati nella relazione del professor Costa registrano una generale riduzione di PFOA (riduzione, peraltro, molto sottolineata dall'estensore), considerato che, per n. 34 lavoratori più esposti, in quanto addetti alla produzione, i quali hanno effettuato il monitoraggio biologico negli anni compresi tra il 2007 e il 2016, si è passati (anno 2007), quanto ai valori massimi, dalla presenza di PFOA nel siero di 47.030 microgrammi/l (pari a 47.030.000 nanogrammi/l) alla attuale presenza (anno 2016) di tale sostanza di 22.731 microgrammi/l (pari a 22.731.000 nanogrammi/l)³⁵. Tali valori restano superiori ai valori limite indicati dal professor Costa.

Valori altrettanto elevati sono stati riscontrati nei livelli serici di PFOA sia nei 23 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi quindici anni³⁶, sia nei 15 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi quindici anni³⁷.

Del pari, rimangono elevati i livelli serici di PFOA per i 79 lavoratori, che hanno effettuato i controlli negli ultimi 2 anni (2015 e 2016)³⁸.

Anche per i PFOS, oggetto di produzione fino all'anno 2011, i valori limite biologici per esposizioni professionali, riportati nella tabella 9, rigo 5, della relazione del professor Costa sono elevati, posto, ad esempio, che per i lavoratori più esposti il PFOS nel siero del sangue nell'anno 2016 è stato accertato nella misura a 433 microgrammi/l (433.000 nanogrammi/l), mentre nell'anno 2000 era di 3.386 microgrammi/l (3.386.000 nanogrammi/l).

Si tratta, all'evidenza, di valori di per sé già molto elevati - peraltro addirittura anche al di sopra degli stessi limiti di riferimento adottati dal professor Costa - che non possono essere sottovalutati,

³⁵ Cfr. tabella 6, quarto rigo del Doc. 1578/2. Le tabelle del citato documento sono in allegato 2 alla presente relazione

³⁶ Cfr. tabella 7, del Doc. 1578/2, , espressi in microgrammi.

³⁷ Cfr. tabella 8, del Doc. 1578/2, , espressi in microgrammi.

³⁸ Cfr. tabella 3, quarto rigo del Doc. 1578/2

in quanto significativi della persistenza negli anni di tale sostanza perfluoroalchilica (PFOS) nell'organismo umano, nonostante la produzione della stessa sia ormai cessata da un lustro.

Inoltre, il professor Costa omette del tutto di riferire in ordine alla presenza nel siero dei lavoratori dello stabilimento di Trissino delle sostanze perfluoroalchiliche a 4 atomi di carbonio (PFBA e PFBS), che a partire dal 2011 hanno sostituito il PFOA e il PFOS.

Infine, in data 2 dicembre 2016, il professor Costa ha inviato alla Commissione di inchiesta un estratto delle relazioni sull'attività di sorveglianza da lui svolta sui lavoratori della Miteni nell'ultimo quinquennio (2010-2015), con le relative conclusioni per ciascuna annualità.³⁹ Le conclusioni per le annualità considerate sono identiche, nel senso che sono ripetute di anno in anno e ciascuna contiene un rinvio alle conclusioni dell'anno precedente, fino ad arrivare a quelle elaborate nel 2010, che così si esprimono “...il controllo periodico dei lavoratori non ha rilevato significative alterazioni del loro stato di salute, sia dal punto di vista clinico generale che a livello degli indicatori biologici di effetto a carico di organi/sistemi bersaglio (in particolare quelli emopoietico, epatico, renale e metabolico). Le loro condizioni di salute sono soddisfacenti e non emergono elementi che indichino un significativo rischio di patologie correlate al lavoro, che risulta attualmente ben controllato e da considerarsi ragionevolmente entro i limiti di ampia accettabilità. Per quanto riguarda in particolare l'esposizione a PFOA, i risultati del monitoraggio biologico confermano il trend alla progressiva riduzione dell'esposizione, e conseguente concentrazione nel sangue, pur se il processo è lento e vi sono ancora sporadici casi di modesto assorbimento”.

Tuttavia accade che si è in presenza di conclusioni, che poggiano su esami emato-chimici e delle urine, i cui dati tuttavia non vengono esposti, in quanto coperti da *omissis*, sicché è esclusa ogni possibilità di una loro verifica.

Inoltre, va sottolineato che si tratta di conclusioni che, anche nell'ultimo controllo eseguito, quello dell'anno 2015, appaiono generaliste, in quanto sono del tipo, “il controllo sanitario dei lavoratori è risultato in linea con gli anni precedenti” o ancora “non sono emersi elementi che indichino un significativo rischio di disturbi e/o patologie correlate al lavoro”.

Infine, nelle conclusioni anzidette nulla viene detto in ordine all'esecuzione di accertamenti specifici sulla funzionalità nel tempo degli organi ritenuti maggiormente esposti ai composti perfluoroalchilici, quali la tiroide, i reni o il fegato, né sull'eventuale accertamento di malattie correlate a esposizioni prolungate nel tempo.

³⁹ Doc. 1610/2
33

In particolare, l'estratto delle relazioni sull'attività di sorveglianza sanitaria⁴⁰, consegnato dal professor Costa alla Commissione di inchiesta, non contiene cenno alcuno sulle eventuali patologie sub-letali di quei lavoratori che sono stati monitorati nei vari periodi di riferimento - di cui alla relazione del 23 novembre 2016 dello stesso professor Costa⁴¹- cioè, i 34 lavoratori monitorati a partire dall'anno 2007, i 23 lavoratori monitorati a partire dall'anno 2003 e i 15 lavoratori monitorati a partire dall'anno 2000.⁴²

In realtà, l'unico obiettivo delle varie relazioni del professor Costa sembra essere, per un verso, quello di dimostrare il rispetto dei valori di riferimento indicati, come si è visto molto elevati e, per altro verso, l'assenza di "significativo rischio di patologie correlate al lavoro", "pur nella lenta eliminazione della sostanza (PFOA) dovuta alla sua lunga emivita biologica".

Si tratta - ad avviso della Commissione di inchiesta - di una grave carenza metodologica, posto che il monitoraggio dei lavoratori della Miteni ha un senso non in relazione al rispetto di parametri astratti - peraltro, come si è visto - molto elevati, bensì in relazione alla verifica del loro effettivo stato di salute, dopo anni di assorbimento di sostanze perfluoroalchiliche, che come si è visto sono potenzialmente pericolose.

Si è infatti ampiamente riportata in questa relazione la esistenza di possibili (e, in alcuni casi, molto probabili) correlazioni tra l'esposizione alle sostanze perfluoroalchiliche (PFOA e PFOS in particolare) e l'insorgenza di numerose patologie in seguito ad esposizioni prolungate. Tra queste si possono qui brevemente ricordare: ipercolesterolemia, colite ulcerosa, malattie tiroidee, tumori del testicolo e del rene, ipertensione indotta dalla gravidanza e preeclampsia, nonché associazioni con varie patologie cardiovascolari quali arteriosclerosi, ischemie cerebrali e cardiache, infarto miocardico acuto e diabete.

Queste considerazioni diventano tanto più gravi se si guarda ad alcuni studi che indicano anche dati quantitativi nella associazione tra l'insorgenza delle patologie e le concentrazioni di esposizione. Ad esempio, studi epidemiologici sull'uomo, e in particolare sugli operai esposti a composti perfluoroorganici, non mostrano correlazioni con epatotossicità solo per concentrazioni di PFOS al di sotto di 6 microgrammi/l (pari a 6.000 nanogrammi/l).⁴³

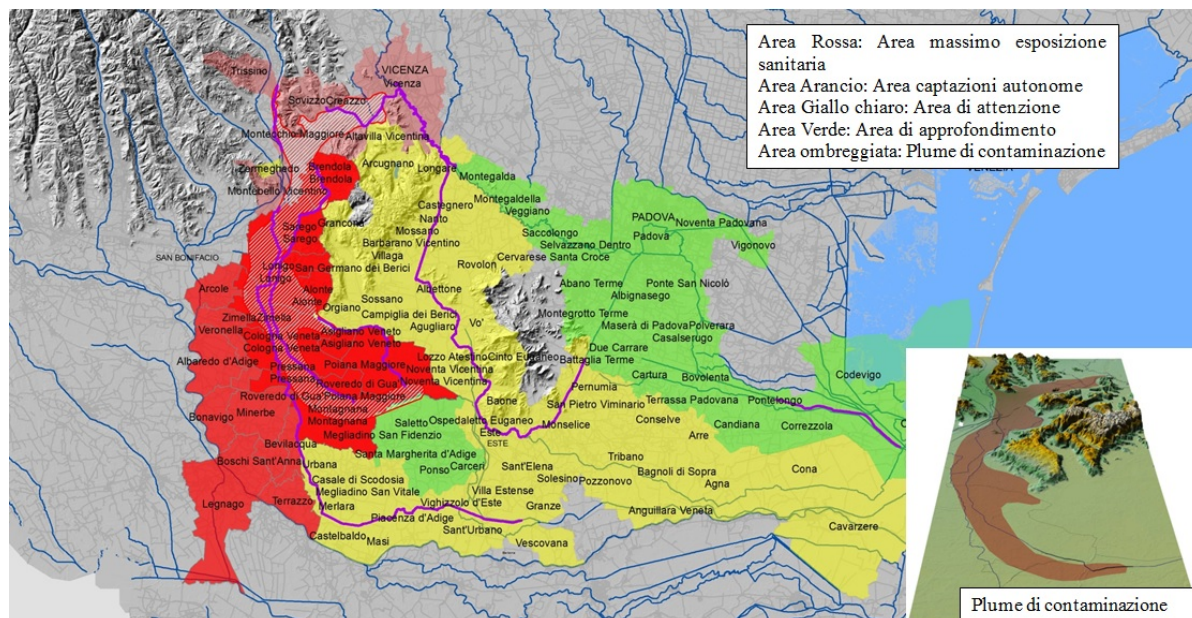
⁴⁰ Doc. 1610/2

⁴¹ Doc. 1578/2

⁴² Cfr. rispettivamente le tabelle 6, 7, e 8 del Doc. 1578/2.

⁴³ G. W. Olsen, J. M. Burris, J.H. Mandel, L. R. Zobel "Serum perfluorooctane and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees" J. Occup. Environ. Med. 1999, 41, 799- 806.

4. L'inquinamento da PFAS nella Valle del Chiampo.



Come si è visto, il punto principale e la causa dell'inquinamento delle acque di falda del vicentino sono stati individuati nell'attività che svolge l'azienda chimica Miteni, sita nel comune di Trissino, nella provincia di Vicenza, trattando i composti perfluoroalchilici, con conseguente inquinamento delle acque di falda, che vengono utilizzate sia come acqua potabile, che quindi ritorna nel ciclo depurativo, sia per il raffreddamento delle fabbriche, sia per l'irrigazione dei campi.

Fatto sta che gli accertamenti eseguiti dal CNR, sui quali si approfondirà di seguito, hanno consentito di appurare la presenza di composti perfluoroalchilici nelle acque potabili prelevate al rubinetto, in un'area della provincia di Vicenza di oltre 100 kmq, superiori a 1.000 nanogrammi per litro, che rendono tali acque del tutto inidonee all'uso potabile.⁴⁴

Sul problema è intervenuta la direttrice del dipartimento ambiente e prevenzione primaria dell'Istituto superiore di sanità, Loredana Musmeci, la quale, nel corso dell'audizione del 18 maggio 2016, ha riferito che nelle aree contaminate di Verona, Padova e Vicenza, quindi, in quelle aree servite dagli acquedotti, dove è stata riscontrata la presenza di PFAS, a seguito dei parametri e dei limiti dati dall'Istituto e dal Ministero della salute e all'installazione di filtri a carboni attivi, le acque distribuite sono a norma, cioè rientrano in questi limiti e cioè, PFOS 30 ng/l; PFOA 500 ng/l

⁴⁴ cfr. pag.13 del resoconto stenografico dell'audizione di Stefano Polesello del 25 maggio 2016
 35

e altri PFAS 500 ng/l; PFBA (Acido perfulorobutanoico), 500 ng/l e PFBS (Acido perfluorbutansolfonico) 500 ng/l.

Tuttavia, la dottoressa Musmeci ha riferito che vi erano stati alcuni sforamenti.

In realtà, la situazione è lungi dall'essere definita, come si vedrà di seguito.

Il sindaco di Lonigo, Luca Restelli, nel corso dell'audizione del 16 maggio 2016, ha riferito che il suo comune è tra quelli con maggiore presenza di PFAS (2.403 nanogrammi per litro) e che l'acquedotto pubblico, che preleva l'acqua dalla falda, necessitava di essere filtrato in continuazione, sicché i filtri a carboni attivi utilizzati necessitavano di essere costantemente cambiati, in quanto raggiungevano facilmente nell'acqua potabile i valori limiti di PFAS di 450-495 nanogrammi per litro, con costi notevoli, considerato che tali filtri, se posizionati in un depuratore che tratta una massa d'acqua notevolissima, comportano un innalzamento del costo del servizio, misurato a litro d'acqua trattata, di circa il 40 per cento.⁴⁵

Allo scopo di superare tale situazione emergenziale, il sindaco di Lonigo, nonché il sindaco di Brendola, Renato Ceron, nel corso delle loro audizioni hanno insistito sulla necessità di potenziare il canale L.E.B. - che preleva le acque dell'Adige dal canale di scarico della centrale ENEL - in maniera da consentire l'uso di acque non inquinate, sia per l'irrigazione dei campi, sia per l'abbeveraggio degli animali dei territori comunali maggiormente contaminati da PFAS (Altavilla, Brendola, Lonigo, Montecchio, Monteviale, Creazzo, Sarego, Sossano).

A sua volta, Roberto Castiglion, sindaco di Sarego, comune di settemila abitanti posto tra Brendola e Lonigo, nel corso dell'audizione del 16 maggio 2016, ha riferito che un monitoraggio eseguito nel suo comune ha rilevato la presenza nell'insalata di 1.500 nanogrammi di PFOA e di 6.600 nanogrammi di PFBA, mentre nel sangue dei cittadini dello stesso comune sono state rinvenute concentrazioni massime di 754 nanogrammi di PFOA a fronte di valori medi dei cittadini non esposti, pari a 10 nanogrammi.

La Commissione di inchiesta, a fronte di tali preoccupazioni, ha richiesto alla regione Veneto, nella persona dell'assessore all'ambiente Gianpaolo Bottacin, una relazione aggiornata sui seguenti punti:

- 1) la rappresentazione specifica del sistema acquedottistico e di rifornimento delle acque potabili dei comuni contaminati, con particolare riferimento ai comuni di Sovizzo, Sarego, Brendola, Montecchio e Lonigo;

⁴⁵ Cfr. dichiarazioni del dottor Rombaldoni, sostituto procuratore della Repubblica presso il tribunale di Verona, nell'audizione del 7 luglio 2016.

- 2) notizie specifiche sui sistemi di filtraggio nelle opere di presa degli acquedotti e, in particolare, sul posizionamento dei carboni attivi e sulla loro efficacia negli acquedotti pubblici;
- 3) l'attività svolta per censire tutti i pozzi utilizzati a scopo potabile, anche i pozzi privati, al fine di ricercare la presenza delle sostanze perfluoroalchiliche e gli esiti dell'attività svolta;
- 4) notizie sulla presenza di sostanze perfluoroalchiliche nei canali utilizzati in agricoltura nel vicentino ed eventuali provvedimenti assunti.

Infine, la Commissione ha richiesto alla regione Veneto la relazione sulla contaminazione dei cibi da PFAS, di cui si è avuto cognizione nel corso di una trasmissione televisiva in data 11 ottobre 2016.

Sui punti anzidetti (da 1 a 4), la regione Veneto, in data 19 dicembre 2016, ha inviato i documenti 1631/1, 1631/2 e 1631/3 contenenti due relazioni, accompagnate dai relativi allegati di riferimento (complessivamente 13 allegati, di cui due sono le relazioni stesse).

La prima relazione riguarda la “Contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFASs) nelle acque ad uso umano” (documento di sintesi aggiornato al 31 agosto 2016).

In tale documento di sintesi vengono riportati gli esiti dell'aggiornamento relativo alle concentrazioni delle sostanze perfluoroalchiliche nelle acque destinate al consumo umano sia della rete acquedottistica, sia della rete dei pozzi privati, anche con riferimento alle acque di pozzo privato per abbeverata.

I risultati delle elaborazioni statistiche sulle analisi effettuate, nel periodo da luglio 2013 a giugno 2016, per un totale di 2.506 campioni prelevati da 1.278 pozzi pubblici, pongono in evidenza che per le sostanze PFOA e PFOS il fenomeno risulta essere ampiamente contenuto entro i livelli dei limiti di *performance* fissati dall'ISS, mentre per quanto riguarda gli altri PFAS, pur essendo comunque i valori di concentrazione rilevati entro i limiti di *performance*, essi si avvicinano ai livelli limite fissati dall'ISS.

Per quanto riguarda, invece, i prelievi effettuati nei pozzi privati - sempre nel periodo luglio 2013 - giugno 2016 - eseguiti su 1.064 pozzi, per un totale di 1.228 campionamenti, le elaborazioni analitiche hanno posto in evidenza il superamento dei livelli limite di *performance* fissati dall'ISS

nel 17 per cento dei campioni per il PFOA, nel 9 per cento dei campioni per il PFOS e nel 23 per cento dei campioni per gli altri PFAS.

Le analisi eseguite costituiscono la conferma che il fenomeno di inquinamento delle acque potabili da PFAS è ancora in atto e che le misure realizzate per il suo contenimento non sono completamente efficaci.

La seconda relazione riguarda “l’Aggiornamento a dicembre 2015 del monitoraggio delle sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) nelle acque superficiali del Veneto” (periodo di riferimento luglio 2013 - dicembre 2015).

Questo secondo documento, elaborato dall’ARPAV, si riferisce ai dati raccolti dal monitoraggio sui corsi d’acqua superficiali dei bacini idrografici del Veneto - potenzialmente interessati dai fenomeni di contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche - effettuato a partire dal mese di agosto 2013 sino al mese di dicembre 2015, su 128 siti di corsi d’acqua superficiali, per un totale di:

- 24 campioni in 12 corpi idrici lacustri e 228 analisi;
- 352 campioni in 111 corpi idrici fluviali e oltre 4.000 analisi.

Per quanto riguarda i fiumi, dal confronto tra i valori degli SQA previsti dal decreto legislativo n. 172 del 13 ottobre 2015, emerge che si riscontrano diversi superamenti dei limiti degli *standard* di qualità delle acque (SQA) per il PFOS e il PFOA, mentre per gli altri PFAS le singole concentrazioni risultano sempre inferiori al valore medio annuo previsto.

Dalle misure effettuate si evince che i bacini idrografici maggiormente interessati dal fenomeno sono i bacini Fratta Gorzone e Bacchiglione. Le criticità riscontrate riguardano principalmente lo scarico A.Ri.C.A. e gli scambi “naturali” tra acque superficiali e acque sotterranee attraverso complessi meccanismi di contaminazione.

Per quanto riguarda gli altri bacini idrografici, non sono stati riscontrati PFAS nelle acque superficiali dei bacini: Brenta (prima della confluenza del Gorzone e del Bacchiglione), Piave, Livenza, Pianura tra Livenza e Piave e Tagliamento e nei laghi del bacino del Brenta e del Piave.

Sono state riscontrate delle presenze occasionali nel bacino scolante nella laguna di Venezia, Fissero Tartaro Canalbianco Lemene, Sile e Po.

Come si può notare, anche il monitoraggio dei corsi d'acqua dei bacini idrografici del Veneto conferma che il fenomeno di inquinamento da PFAS è ancora in atto e che è ben lontano da essere risolto.

Infine, da un recentissimo comunicato stampa, il numero 1746 del 26 dicembre 2016, pubblicato sul sito della regione Veneto,⁴⁶ si è appreso che la Giunta regionale del Veneto sta iniziando una vasta azione sanitaria per verificare la presenza e gli eventuali effetti su persone e alimenti dei PFAS, la cui contaminazione ha interessato parte del territorio regionale.

L'azione è stata avviata dalla giunta regionale del Veneto che, su proposta dell'assessore alla sanità Luca Coletto, ha approvato due importanti piani di intervento:

1. "Piano di sorveglianza sulla popolazione esposta alle sostanze perfluoroalchiliche";
2. "Piano di campionamento per il monitoraggio degli alimenti in relazione alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in alcuni ambiti della regione del Veneto".

Il piano di sorveglianza sulla popolazione esposta alle sostanze perfluoroalchiliche interesserà circa 85 mila persone e si basa sulla considerazione che la popolazione esposta ai PFAS possa presentare un maggior rischio di incorrere in malattie croniche, solitamente e, principalmente, determinate da quattro fattori di rischio: fumo, alcool, sedentarietà e sovrappeso. Ma tale popolazione ha avuto anche un'esposizione a un quinto fattore di rischio, rappresentato dai PFAS, che secondo gli studi di letteratura, può essere associato a modifiche del metabolismo glicidico e lipidico, che possono predisporre a condizioni di rischio per le malattie croniche.

Nello specifico, il piano di sorveglianza sulla popolazione, sulla base di parametri di contaminazione delle acque superficiali e profonde, ha individuato in primo luogo la zona di massimo impatto sanitario (cosiddetta "area rossa", distinta in due sotto-aree, "area rossa A" e in "area rossa B", a seconda dei livelli di contaminazione), nella quale sono compresi 21 comuni posti nelle province di Vicenza, Padova e Verona. Quindi, il piano si propone di caratterizzare l'esposizione a PFAS delle persone che risiedono nelle aree contaminate, di valutare gli effetti delle

⁴⁶ Doc 1677/2
39

esposizioni a PFAS sulla salute dei soggetti esposti e di identificare i comportamenti a rischio per le malattie croniche degenerative.

Tale piano è esteso alle cinque aziende Ulss coinvolte (Ovest Vicentino, Vicenza, Verona, Legnago ed Este), interesserà quasi 85.000 persone comprese tra i 14 ed i 65 anni.

I primi ad essere chiamati saranno i quattordicenni. La scelta di iniziare con i più giovani è dettata dal fatto che l'eventuale alta concentrazione di PFAS e/o di rilevanti alterazioni metaboliche in tali soggetti potrebbe rappresentare motivo utile per approfondimenti in termini di coorti interessate e di correlazione sanitaria all'esposizione alle sostanze in oggetto, in quanto gli scorretti stili di vita risultano meno associati ai soggetti appartenenti alle coorti più giovani (14-15enni).

La regione Veneto ha affidato il coordinamento della fase operativa all'Ulss 5 Ovest Vicentino. La chiamata è stata strutturata come uno *screening* oncologico, con la convocazione dei singoli cittadini, con periodicità biennale. Gli individui con stili di vita non salutarie verranno informati dei rischi per la salute e sostenuti nella modifica dei comportamenti. Quelli con concentrazioni sieriche di PFAS superiori all'intervallo di normalità e/o con alterazioni degli esami biochimici o dei valori pressori verranno presi in carico dal proprio medico di famiglia e inseriti in un percorso assistenziale di II° livello, per la diagnosi tempestiva di eventuali patologie correlate all'esposizione a PFAS.

La regione del Veneto si è fornita di un sistema informativo regionale screening PFAS con il quale ottimizzare tutto il processo dell'indagine dagli inviti alla registrazione dei referti agli invii dei risultati e alla elaborazione degli indicatori di salute più rappresentativi e ha stabilito che il programma è completamente gratuito per la popolazione *target* invitata e che per le donne in gravidanza e per i lavoratori dell'azienda produttrice di queste sostanze sarà avviato un piano di sorveglianza *ad hoc*.

A sua volta, l'obiettivo stabilito dalla regione del piano di campionamento per il monitoraggio degli alimenti è quello di stimare il livello di contaminazione da PFAS nelle principali produzioni agro-zootecniche dell'area a rischio e di individuare i livelli di sicurezza di tali contaminanti negli alimenti. I risultati ottenuti dovranno essere correlati ai dati sui consumi alimentari della

popolazione della zona a rischio al fine di valutare l'esposizione per via alimentare (ivi compresa la fonte idrica).

A tale proposito, le matrici alimentari sono state selezionate in base alla rilevanza delle produzioni agro-zootecniche, considerando l'estensione di territorio dedicata e il numero di aziende attive nel territorio, la numerosità campionaria garantisce la rappresentatività del campione rispetto alla realtà territoriale. Il campionamento coinvolge sia le aziende industriali, sia quelle familiari/per autoconsumo. La precisa individuazione delle aziende da campionare e il prelievo dei campioni è a carico delle Ulss competenti per territorio. Le modalità di campionamento sono definite in specifici protocolli elaborati dai competenti servizi regionali e che sono stati condivisi con le Ulss prima dell'avvio del piano. I campioni di origine animale e vegetale dovranno essere inviati rispettivamente all'Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie e all'Agenzia regionale per l'ambiente del Veneto accompagnanti dalla scheda di campionamento, che è diversa in base al tipo di matrice da campionare - alimenti di origine animale, vegetale e pesci di acqua dolce.

Nei singoli campioni saranno determinati PFOS, PFOA e altri PFAS dettagliati nel documento che descrive i protocolli tecnici per le analisi di laboratorio. Il campionamento sarà effettuato nell'arco temporale necessario per garantire il rispetto della stagionalità delle produzioni coinvolte nel piano.

5. Le modalità dell'inquinamento

Poiché le sostanze oggetto della contaminazione non hanno né limiti ambientali, né limiti di utilizzo potabile, l'area attualmente interessata dalla contaminazione da PFAS si estende per circa 180 chilometri quadrati, coinvolgendo le province di Vicenza, Verona e Padova.

Come si è detto, l'origine della contaminazione è stata individuata dall'ARPA Veneto negli scarichi dell'azienda chimica Miteni Spa, posta nel comune di Trissino, la quale si è comunque già attivata per migliorare l'efficienza dei propri impianti di trattamento.

Il comune di Trissino si trova nella Valle dell'Agno, dove è localizzato il più importante distretto tessile e conciario italiano, quello di Arzignano, oltre allo stabilimento di fluorocomposti della Miteni spa.

La situazione del grave inquinamento della falda acquifera è stata confermata anche dal direttore dell'ARPA Veneto, Carlo Emanuele Pepe, il quale, nel corso dell'audizione del 28 ottobre 2014, ha

riferito in modo molto preoccupato sulla vastità e sull'importanza dell'inquinamento, quale acclarato dalle analisi di laboratorio, effettuate già a partire dal mese di giugno 2013.

Successivamente, in data 5 febbraio 2015, è pervenuto a questa Commissione di inchiesta un esposto/denuncia per il reato di disastro innominato, inviato dal “Coordinamento acqua libera dai PFAS” alle procure della Repubblica presso i tribunali di Verona e di Vicenza nei confronti della Miteni spa di Trissino, con una richiesta di sequestro preventivo:

- 1) degli impianti di scarico dei reflui industriali nella rete fognaria o in corso d'acqua degli impianti della Miteni spa;
- 2) dei pozzi artesiani posti a valle dell'impianto Miteni spa, come individuati nella planimetria allegata alla relazione ARPA Veneto dell'11 luglio 2013;
- 3) del collettore cosiddetto A.Ri.C.A. (Consorzio aziende riunite collettore acque), che gestisce il collettore che raccoglie i reflui delle società di gestione dei depuratori delle società Acque del Chiampo, Alto Vicentino Servizi Spa e Medio Chiampo, che a loro volta hanno più depuratori.

In particolare, il collettore A.Ri.C.A., che insiste in Cologna Veneta (VR) sul corso d'acqua Agno-Fratta-Gorzone⁴⁷, raccoglie le acque di scarico degli impianti di depurazione delle acque reflue urbane e industriali nei territori di Trissino, Arzignano, Montecchio Maggiore, Montebello Vicentino e Lonigo; quindi, le acque coltettate vengono scaricate nel fiume Fratta, che viene incrementato con finalità irrigue dal canale artificiale denominato L.E.B., di cui si è detto.

Nell'esposto/denuncia per il reato di disastro innominato, inviato dal “Coordinamento acqua libera dai PFAS”, vengono richiamati gli esiti dello studio dell'IRSA (Istituto di ricerca sulle acque) - CNR, secondo cui, nel 2013, risulta accertata la presenza nel bacino dell'Agno-Fratta-Gorzone di concentrazioni crescenti da nord a sud, che raggiungevano valori di PFOA (acido perfluorooottanoico) superiori a 1.000 ng/l, nonché di PFAS (sostanze perfluoroalchiliche) totali, superiori a 2.000 ng/l.

Si tratta di un dato, che è stato effettivamente confermato dall'Istituto di ricerca sulle acque (IRSA) - CNR, nella relazione acquisita del 25 marzo 2013 (doc. 448/2).

La relazione dell'IRSA osserva:

⁴⁷ Doc. 321/3

- 1) che sono state effettuate tre campagne di monitoraggio (maggio 2011, ottobre 2012 e Febbraio 2013) nei corpi idrici superficiali e nei reflui industriali e di depurazione del reticolo idrografico della provincia di Vicenza, in particolare, del distretto industriale di Valdagno, dove nel comune di Trissino è ubicato lo stabilimento di fluorocomposti della Miteni spa e della Valle del Chiampo, dove è localizzato il più importante distretto tessile e conciario italiano;
- 2) che, nel corso dell'ultimo campionamento, contestualmente alle acque superficiali, sono stati prelevati campioni di acqua potabile in più di 30 comuni, in prevalenza della provincia di Vicenza, e anche nei comuni limitrofi delle province di Padova e Verona.

Quindi, la relazione concentra la propria attenzione sull'area posta a sud dell'autostrada racchiusa tra l'Adige e i colli Berici ed Euganei, dove è ubicato lo scarico del collettore consortile A.Ri.C.A (gestito dal Consorzio A.Ri.C.A.) che, come si è visto, trasferisce i reflui depurati di cinque depuratori (Trissino, Arzignano, Montecchio Maggiore, Montebello Vicentino e Lonigo, per un totale circa 2.300.000 abitanti equivalenti) nel canale Fratta - Gorzone, all'altezza di Cologna Veneta, in prossimità della confluenza nel Fratta-Gorzone del canale irriguo L.E.B. (Consorzio di bonifica di II grado Lessinio - Euganeo - Berico), che garantisce il carico idraulico adeguato.

Il canale L.E.B. Adige preleva le acque dell'Adige dal canale di scarico della centrale ENEL (ex SAVA) di Zevio, a Belfiore d'Adige e, dopo aver percorso 16.25 km, le immette nel fiume Guà a Cologna Veneta.

Il canale LEB è una grande opera che, non solo consente di irrigare un territorio di 82.675 ettari, ma ha anche un'importante funzione ambientale e di difesa idraulica nei periodi di grandi piogge, svolgendo un ruolo importante nell'attività di vivificazione ambientale del fiume Fratta Gorzone.

Questo grande volume di acqua proveniente dall'Adige, oltre a garantire il carico idraulico adeguato al fine dell'irrigazione, produce l'effetto di diluire le concentrazioni degli inquinanti provenienti dai cinque depuratori convogliati dal tubone A.Ri.C.A.

Sul punto, Luigi Lazzaro, presidente di Legambiente Veneto e Piergiorgio Boscagnin, presidente del circolo di Legambiente Perla Blu di Cologna Veneta, nel corso dell'audizione del 22 giugno 2016, hanno riferito che nel Fratta-Gorzone ancora oggi giungono 500 miliardi di nanogrammi al giorno di queste sostanze perfluoroalchiliche, che vengono diluite dall'acqua portata dal canale L.E.B., che è pari a 6 metri cubi al secondo, per 365 giorni all'anno.

Si tratta di acque che entrano nel Fratta-Gorzone e vanno a mare.

Infatti, il canale Fratta-Gorzone attraversa le provincie di Padova e Venezia e confluisce nel fiume Brenta, in località Punta Gorzone a sud di Chioggia, prima della foce presso la località Cà Pasqua.

Infine, l'IRSA, nell'assenza di limiti di potabilità italiani o comunitari, opera un confronto tra le concentrazioni rilevate di PFOA e di PFAS con i limiti proposti in ambito US-EPA (Environmental Protection Agency - Agenzia di protezione ambientale americana), pari a 400 ng/l per PFOA e a 200 ng/l per PFOS) o tedeschi (100 ng/l, per la somma dei perfluorurati per una esposizione decennale), rilevando che nel bacino di Agno-Fratta-Gorzone - oggetto di interesse in questa sede - tali limiti sono ampiamente superati, considerato che vi sono concentrazioni crescenti da nord a sud che raggiungono valori di PFOA superiori a 1.000 ng/l e di PFAS totale superiori a 2.000 ng/l.⁴⁸

Tutto ciò osservato, la relazione dell'Istituto di ricerca sulle acque - CNR Area conclude, richiamando l'esistenza di un possibile rischio sanitario per le popolazioni, che bevono queste acque, prelevate dalla falda.

In realtà, sui limiti per l'acqua potabile sono stati indicati livelli di *performance* dall'Istituto superiore di sanità, su richiesta del Ministero della salute (poi trasmessi alla regione Veneto con nota prot. 2565 del 29 gennaio 2014) che corrispondono ai seguenti valori:

- 30 ng/l per PFOS;
- 500 ng /l per PFOA;
- 500 ng/l per la somma delle rimanenti 10 sostanze PFAS.

Tali limiti sono stati poi stati aggiornati nel 2015, includendo quelli per PFBA (500 ng/l), PFBS (500 ng/l) e innalzando così complessivamente il limite da 1.030 ng/l a 2.030 ng/l, per la somma di tutti i PFAS [PFOS (30 ng/l) + PFOA (500 ng/l) + PFBA (500 ng/l) + PFBS (500 ng/l) + somma degli altri PFAS (500 ng/l)].

A sua volta, nell'esposto/denuncia per il reato di disastro innominato, inviato dal "Coordinamento acqua libera dai PFAS" si legge che l'ARPA Veneto (dipartimento provinciale di Vicenza), con nota prot. 0075059/X.00.00, in data 11 luglio 2013, dopo aver effettuato i campionamenti allo scarico del collettore fognario A.Ri.C.A., con sede ad Arzignano, ha concluso in modo inequivocabile che "l'incidenza della contaminazione provocata sul corso d'acqua Fratta-Gorzone a Cologna Veneta è prevalentemente dovuta alla rilevante presenza di sostanze perfluoro-alchiliche

⁴⁸ Doc. 448/2

nello scarico industriale della ditta Miteni spa, allacciata all'impianto di depurazione di Trissino, che contribuisce per il 96,989 per cento all'apporto totale di PFAS scaricati nel Fratta-Gorzone".

Secondo l'ARPA Veneto, l'inquinamento delle acque è determinato dal fatto che gli impianti di depurazione in questione non sono in grado di abbattere questo tipo di sostanze, non essendo dotati di tecnologia adeguata, mentre la diminuzione della concentrazione allo scarico è dovuta esclusivamente all'effetto diluizione.

Aggiungasi, inoltre, alla stregua delle verifiche effettuate dall'ARPA, che l'inquinamento da PFAS interessa anche il torrente Poscola, posto che la Miteni spa scarica nello stesso torrente le acque provenienti dai circuiti di raffreddamento, oltre alle acque di seconda pioggia, limitatamente alle aree non produttive (uffici, piazzali e altri).

E' pur vero che le acque di raffreddamento, prelevate dai pozzi, vengono filtrate su carboni attivi, utilizzate e, quindi, scaricate, ma la presenza di composti perfluoroalchilici in queste acque deriva dal fatto che i pozzi da cui le acque vengono emunte attingono dalla falda e sono gli stessi pozzi normalmente adibiti dalla società Miteni a barriera idraulica. Peraltro, l'andamento della concentrazione di tali composti nelle acque scaricate in Poscola dipende, oltre che dalla qualità dell'acqua emunta, anche dalla velocità di esaurimento dei carboni attivi utilizzati.

Sul punto, va precisato che l'AIA della Miteni comprende limiti allo scarico in Poscola uguali a quelli previsti per le acque potabili.

Quindi, l'ARPA Veneto, con successivo studio, avente oggetto lo "Stato di inquinamento da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in provincia di Vicenza, Padova e Verona - Aspetti geologici e idrogeologici, la rete idrografica, il sito potenzialmente inquinato e prima delimitazione dell'inquinamento al 30 settembre 2013" ha confermato un rilevante inquinamento sia delle acque sotterranee, sia di quelle superficiali in un territorio più vasto, compreso nei comuni delle province di Vicenza, di Verona e di Padova, interessati da PFAS non solo nel corpo idrico di falda, ma anche nelle pubbliche condotte di acqua potabile.

In particolare, sono stati rilevati elevati valori di PFOA e di PFOS nelle acque di falda dei comuni di Lonigo e Brendola, entrambi in provincia di Vicenza, nonché nella rete acquedottistica che serve alcuni comuni della contigua provincia di Verona, quali Arcole, Veronella, Zimella, Pressana, Roveredo di Guà, Albaredo d'Adige, Cologna Veneta.

Ciò dipende dal fatto che gli acquedotti dei comuni veronesi attingono proprio alle acque di falda del comune di Lonigo.

A questo punto, i comuni interessati dalla predetta contaminazione hanno adottato una campagna di controllo dei pozzi, imponendo ai privati di sottoporre l'acqua attinta da tali pozzi a campionamento e analisi chimica per la determinazione delle sostanze perfluoroalchiliche.

A sua volta, l'Istituto superiore di sanità ha fornito all'ARPA Veneto rassicurazioni sulla mancanza di un rischio immediato per la popolazione esposta, pur consigliando, a scopo cautelativo, l'adozione di misure di trattamento delle acque potabili per l'abbattimento delle sostanze in questione e di prevenzione e controllo della filiera idrica delle acque destinate al consumo umano nei territori interessati.

Pertanto, d'intesa con la regione Veneto, sono già state messe in atto una serie di misure, atte a ridurre nell'immediato il potenziale rischio per la popolazione, tra cui l'uso di filtri a carboni attivi, e l'ente gestore Acque veronesi ha già provveduto a installare filtri a carbone attivo presso gli impianti di adduzione dell'acqua attinta dal campo Pozzi di Almisano di Lonigo, che approvvigiona i comuni di Arcole, Veronella, Zimella, Albaredo d'Adige, Cologna Veneta, Pressana e Roveredo di Guà.

In particolare, gli acquedotti sono stati provisti di filtri subito nel 2013, arrivando a completare la messa in sicurezza dell'intera rete servita a luglio 2013, mentre le ordinanze sui pozzi sono state emesse dai sindaci a seguito dei provvedimenti emessi dai **competenti uffici regionali**.

Allo stato, i controlli effettuati hanno posto in evidenza l'efficacia dei carboni attivi nel trattenere questi inquinanti (rapporto di prova A e B - pdf 0,5Mb).

In particolare, a fronte di una concentrazione totale di PFAS in ingresso di 1.084 ng/l, di cui PFOA 645 ng/l, l'acqua in uscita dai filtri rileva, per i PFAS, valori inferiori ai 50 ng/l. La depurazione di parte dell'acqua proveniente dai pozzi e la miscelazione consentono così di avere in rete una concentrazione media di 500-600 ng/l di PFAS, di cui 340 ng/l di PFOA (rapporto di prova C - pdf 0,2Mb).

I dati sopra esposti sono stati confermati dalle analisi eseguite dall'ARPA Veneto, contenuti nelle relazioni pervenute alla Commissione di inchiesta in data 3 giugno 2015 (documenti 476/2, 476/3, 476/4, 476/5, 476/6 e 476/7).

Quindi, con la relazione tecnica inviata alla Commissione in data 19 maggio 2015 (doc. 476/7), l'ARPA Veneto, dopo aver osservato in fatto che l'azienda Miteni spa scarica le proprie acque reflue nel sistema fognario, che recapita al depuratore di Trissino, ha riferito che il consorzio A.Ri.C.A., con propria nota (prot. n. 70 del 9 agosto 2013), acquisita agli atti (prot. n. 86311 del 12

agosto 2013), aveva imposto un limite di concentrazione nelle acque di scarico del depuratore suddetto - gestito da Alto Vicentino Servizi Spa - come somma PFOA+PFOS, con la seguente scala temporale: 40.000 ng/l dal 1° settembre 2013; 30.000 ng/l dal 1° ottobre 2013; 20.000 ng/l dal 1° novembre 2013.

Con successivo provvedimento, n. 135 del 30 dicembre 2013, tale valore è stato portato a 15.000 ng/l, a valere dal 1° gennaio 2014 e, a partire da tale data, lo stesso limite di 15.000 ng/l di PFOA+PFOS è stato applicato anche agli altri impianti (Arzignano, Montecchio Maggiore, Montebello Vicentino, Lonigo). Questo è il valore in essere fino al 31 marzo 2015.

Con la successiva relazione tecnica inviata alla Commissione in data 2 novembre 2016,⁴⁹ l'ARPA Veneto riferisce che i limiti allo scarico del depuratore Alto Vicentino Servizi Spa di Trissino sono stati aggiornati, con provvedimento prot. n.757, differenziandoli come segue:

- PFPeA: 3.500 ng/l;
- PFHxA: 3.500 ng/l;
- PFOA: 1.500 ng/l;
- PFOS: 300 ng/l.

Va detto subito che si tratta di limiti molto elevati rispetto ai valori per gli *standard* di qualità delle acque superficiali, stabilito dal decreto legislativo n. 172 del 2015, che - come si vedrà di seguito - per il PFOS è di 0,65 nanogrammi per litro e per il PFOA è di 100 nanogrammi per litro e, come tali, del tutto inidonei a frenare il processo di inquinamento della falda sotterranea e delle acque superficiali.

Comunque, nel documento anzidetto sono presentati i risultati analitici in concentrazione, per i singoli depuratori, facendo comunque riferimento al limite imposto a Trissino.

A partire dal 10 settembre 2013, i valori allo scarico del depuratore di Trissino hanno mostrato il rispetto dell'ordinanza A.Ri.C.A. Infine, la relazione dell'ARPA Veneto pone in evidenza che la somma PFOA+PFOS è andata decrescendo nel tempo, pur in presenza di valori elevati della somma PFAS, particolarmente, nel periodo compreso tra luglio e settembre 2014.

6. In particolare, la situazione della ditta Miteni

⁴⁹ Doc. 1543/3
47

Le attività produttive nell'area occupata attualmente dalla Miteni spa erano iniziate nel 1966, con l'avvio della produzione di composti perfluorurati e fluoroaromatici/derivati del benzotrifluoruro, da parte della ditta (Ricerche Marzotto), con sede in Trissino (VI), località Colombara.

Nel corso degli anni, si erano succedute diverse proprietà, che avevano modificato il nome della società da Rimar in Rimar Chimica Spa, costituita in data 10 dicembre 1980, con capitale sociale di euro 4.800.000,00, interamente versato, e il cui amministratore unico era il signor Toda Shinichi, di nazionalità giapponese, a riprova del fatto che società era posseduta da una multinazionale.

Successivamente, in data 30 gennaio 1989, la Rimar Chimica spa veniva cancellata dal registro delle imprese, a seguito della fusione per incorporazione con la Miteni spa, anch'essa con sede in Trissino (VI), località Colombara 91.⁵⁰

Alla data del 14 giugno 2016, il capitale sociale della Miteni spa interamente versato è di euro 7.602.400 ed è posseduto da un unico socio, la International Chemical Investors Italia 3 Holding srl, la quale fa parte del gruppo International Chemical Investors (ICIG).

Si tratta di un gruppo industriale privato con più di 6.000 dipendenti in tutto il mondo. ICIG ha concentrato il proprio business su tre piattaforme principali: prodotti farmaceutici (Pharmaceuticals) sotto il marchio Corden Pharma; chimica fine (Fine Chemicals) sotto il marchio Weylchem e chimica organica (Chlorovinyls) con il marchio Vynova.

Fin dall'inizio, nel 2004, ICIG ha acquisito 25 imprese chimiche e in Europa e negli Stati Uniti, che hanno tutte origini nella grande chimica globale o nelle multinazionali farmaceutiche.

La Miteni spa rientra nel gruppo Weylchem, fondato nel 2005 come piattaforma dei prodotti farmaceutici (Fine Chemicals) di International Chemical Investors Group (ICIG). Il gruppo WeylChem è costituito da nove società operative in quattro diversi paesi in Europa e negli Stati Uniti (fonte dati: Bureau Van Dijk).

Il presidente del consiglio di amministrazione della società Miteni è McGlynn Brian Antony, di nazionalità irlandese, e i consiglieri sono Leitgeb Martin, di nazionalità tedesca e Nardone Antonio Alfiero, nato a San Vito Chietino (CH). Il presidente del collegio sindacale è Zambelli Paolo⁵¹.

L'ARPA Veneto, nella richiamata nota del 3 giugno 2015⁵², con riguardo alla ditta Miteni, riferisce:

⁵⁰ Cfr. Camera di commercio industria artigianato e agricoltura di Vicenza Doc. 1609/3)

⁵¹ Cfr. Camera di commercio industria artigianato e agricoltura di Vicenza - Doc. 1609/2

⁵² Doc. 476/7

- 1) che la sintesi di composti perfluoroalchilici a catena lunga (PFOA e PFOS) era cessata nel 2011, come da dichiarazione della stessa società, mentre rimaneva tuttora attiva la produzione di composti perfluoroalchilici a catena corta (4 atomi di carbonio);
- 2) che le acque produttive esauste, dopo il trattamento, venivano inviate alla fognatura che recapita al depuratore di Trissino;
- 3) che, dopo il citato provvedimento A.Ri.C.A., emesso nei confronti dell'Alto Vicentino Servizi Spa (prot. n. 70 del 9 agosto 2013), ente gestore del depuratore, quest'ultimo, con propria nota (prot. n. 3788 del 12 agosto 2013), acquisita agli atti (prot. n. 87499 del 14 agosto 2013), aveva imposto un limite di concentrazione nelle acque di scarico di Miteni spa: 400.000 ng/l, come somma di PFOA e PFOS, a partire dal 31 agosto 2013, limite che la Miteni aveva rispettato;
- 4) che le acque emunte dai pozzi, dopo il trattamento, vengono utilizzate a scopi produttivi e come acque di raffreddamento, quindi, confluiscono nel torrente Poscola, come risulta dalla relazione dell'ARPA Veneto, che si riferisce al periodo 2013-2016.⁵³
- 5) che lo scarico era stato autorizzato dall'Autorizzazione Integrata Ambientale (AIA), emessa con decreto del Direttore regionale del Dipartimento ambiente n. 59 del 30 luglio 2014.

Nel mese di luglio 2013, l'ARPA Veneto - a seguito di alcuni campionamenti eseguiti in pozzi/piezometri aziendali - contestava alla Miteni spa, ai sensi dell'articolo 245 del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, il superamento delle concentrazioni soglia di contaminazione per alcune sostanze rinvenute nelle acque.

In particolare, vi erano stati modesti superamenti delle seguenti sostanze: ferro, cloroformio, tricloroetilene, tetracloroetilene, 1,2-dicloropropano, fluoruri, 1,4-diclorobenzene e alluminio.

Contestualmente, veniva anche segnalata la presenza in falda di PFAS, per il quale ad oggi l'unico limite esistente riguarda solo il PFOA, stabilito al valore di concentrazioni soglia di contaminazione (CSC) di 500 ng/l dall'Istituto superiore di sanità e fatto proprio dalla regione Veneto.

In conseguenza della suddetta contestazione, la ditta procedeva a mettere in atto delle misure di messa in sicurezza, al fine di contenere il diffondersi della contaminazione.

⁵³ Doc. 1543/3
49

Nel mese di luglio 2013, veniva realizzata una parziale messa in sicurezza del sito, mediante tre pozzi barriera, posizionati nel lato più a sud dello stabilimento, a valle idrogeologica, e un sistema di filtrazione, costituito da due gruppi di filtri a carbone attivo.

I risultati delle attività di monitoraggio condotte dalla società Miteni e dall'ARPA hanno portato alla necessità di approfondire il quadro di conoscenza del contesto idrogeologico in cui insiste il sito e al potenziamento della barriera idraulica medesima. Tale potenziamento è avvenuto per passaggi successivi, tramite la realizzazione di ulteriori pozzi, collegati al sistema di trattamento a carboni attivi, dai quali vengono emunte le acque di falda.

Le relazioni dell'ARPA Veneto, relative al periodo di riferimento 25 giugno 2013- 4 giugno 2016, riguardante l'intero periodo di osservazione (che comprende e aggiorna le altre relazioni precedenti) inviate alla Commissione il 2 novembre 2016⁵⁴, illustrano in dettaglio l'evoluzione nel tempo di tale potenziamento, come di seguito riportata.

A seguito della notifica, presentata nel mese di luglio 2013 dalla società Miteni, di sito potenzialmente contaminato, ai sensi del decreto legislativo n. 152 del 2006, per la presenza di sostanze perfluoroalchiliche nelle acque di falda e altre sostanze, la ditta procedeva ad avviare le attività di messa in sicurezza, che inizialmente consistevano nell'emungimento da tre pozzi barriera posizionati nel margine sud dello stabilimento, con contestuale trattamento delle acque emunte, tramite un sistema di filtri a carboni attivi.

Successivamente, gli emungimenti sono stati progressivamente aumentati, mediante la realizzazione graduale, dal 2013 al 2016, di ulteriori pozzi/piezometri ed è stato aumentato il numero di pompe a servizio dei pozzi.

In particolare, nel 2013 sono stati realizzati i pozzi MW16, pozzo D e pozzo E; nel 2014, sono stati realizzati il piezometro MW19 e i pozzi F e G, che sono stati attrezzati - nel corso del 2015 - con pompe che operano con diversi regimi di portata. Successivamente, anche il pozzo E è stato attrezzato con tali pompe, mentre, all'interno dei pozzi F e G, è stata posizionata un'ulteriore terza pompa, al fine di consentire il prelievo anche in condizioni di magra estrema.

L'inserimento delle tre pompe all'interno dei pozzi si è reso necessario in quanto l'acquifero è soggetto a notevoli variazioni di livello con escursioni di parecchi metri, posto che - in regime di

⁵⁴ Cfr. Doc. n. 1543/2, relazione di sintesi e Doc. 1543/3, con relazione completa, che aggiorna tutte le altre relazioni precedenti.

magra - il livello di acqua nei pozzi è talmente basso da richiedere il posizionamento di più pompe lungo tutta la lunghezza del pozzo medesimo, per poter garantire il prelievo dell'acqua.

Nel corso del 2016 sono stati messi in emungimento ulteriori piezometri interni allo stabilimento di cui alcuni (MW24) di nuova realizzazione, nonché quattro pozzi (denominati H-S, H-P, I e L, di cui i primi due affiancati e con differente profondità e uno fenestrato sul substrato roccioso), a più ampio diametro e attrezzati con un sistema di tre pompe ciascuno.

Attualmente, quindi, a partire dal mese di ottobre 2016, sono in funzione due linee di emungimento:

- A) la prima linea è posizionata, all'esterno, lungo il margine sud dello stabilimento ed è formata da 10 pozzi/piezometri;
- B) la seconda linea è posizionata all'interno dello stabilimento, in corrispondenza delle zone produttive, dove maggiore è la concentrazione rilevata in falda dei contaminanti, ed è costituita da dieci pozzi/piezometri, di cui alcuni già esistenti e altri realizzati allo scopo.

I punti in emungimento ad ottobre 2016 sono posizionati come da figura 1.

I pozzi presenti lungo il margine sud dello stabilimento presentano le caratteristiche e le portate indicate in tabella n.1.

I dati riportati in tabella sono desunti dalla documentazione presentata dalla società Miteni, la quale dichiara che tutte le acque emunte sono trattate da un sistema di filtri a carbone attivo.

POZZO	PROFONDITA' (m)	PORTATA MASSIMA (mc/ora)	PORTATA MEDIA da (ott. 2015 - sett. 2016) (mc/ora)
A	22	46	22.29
B	23	5,4	1.60
Mw19	12.5	2	In emungimento da ott. 2016
Mw19bis	26.6	2	In emungimento da ott. 2016
C	37	46	9.25

D	24	9.6	7.49
E	21	Da 2 a 14	7.77
F	18	Da 2 a 42	10.76
G	21	Da 3 a 42	21.75
Mw16	54	6.8	4.63

Tabella 1: Caratteristiche pozzi barriera a sud dello stabilimento

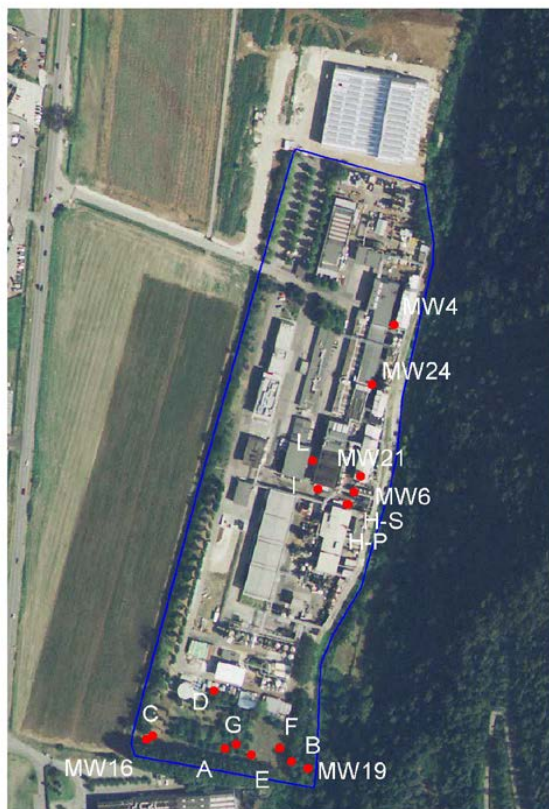


Figura 1: Pozzi e piezometri in emungimento all'interno dello stabilimento

Le caratteristiche e la portata dei pozzi/piezometri posizionati all'interno dello stabilimento, che costituiscono la barriera di primo livello, sono riportate in tabella 2.

Occorre porre in evidenza che tale barriera interna, costituita complessivamente da dieci pozzi/piezometri, è operativa dal mese di ottobre 2016. In precedenza, all'interno dello

stabilimento, vi erano in emungimento solo otto piezometri, che non erano stati realizzati a scopo di barrieramento idraulico, bensì solo per le misurazioni. Tali piezometri sono stati parzialmente sostituiti da pozzi di nuova realizzazione, con funzioni di barriera idraulica.

Naturalmente, per tale nuova barriera, non si dispone quindi di misure di portata effettive, che saranno disponibili a partire dal mese di novembre 2016, in quanto i nuovi pozzi sono stati attrezzati solo di recente con i misuratori di portata e per altri sono ancora in corso i lavori di allacciamento.

POZZO	PROFONDITA' (m)	PORTATA MASSIMA (mc/ora)
MW04	19	2
MW24	15	3
MW06	12.5	2
MW21	15	2
MW26	20	7
MW27	24.5	7
POZZO H-S	30	Da 3 a 20
POZZO H-P	30	Da 3 a 20
POZZO I	22	Da 3 a 20
POZZO L	30	Da 5 a 20

Tabella 2: Caratteristiche pozzi barriera interna allo stabilimento a ottobre 2016

Complessivamente, ad ottobre 2016, risultano attivi venti pozzi/piezometri per un totale massimo di progetto di 360 mc/h, aumentabile a 410 mc/h, mediante l'inserimento di un ulteriore filtro di trattamento.

La portata di emungimento dei pozzi varia in funzione del regime idrogeologico e alcuni pozzi sono attrezzati in modo da consentire l'utilizzo differenziato delle pompe al variare del livello di falda. Dal mese di aprile 2015 al mese di aprile 2016 la portata di emungimento medio è stata di 73 mc/h, con un minimo di 21 mc/h in regime di magra e 133 mc/h in regime di acquifero ricaricato.

Fino al mese di ottobre 2016, le acque emunte dalla barriera (interna ed esterna allo stabilimento) - previa filtrazione su un sistema di filtri a carboni attivi in grado di trattare 60 mc/ora ciascuno - venivano inviate a una vasca di accumulo, da cui potevano essere utilizzate per le attività produttive dell'azienda, inviate cioè al circuito di raffreddamento ovvero utilizzate per fini antincendio.

Tuttavia, le acque provenienti da due dei suddetti piezometri interni (MW4 e MW24) vengono inviate all'impianto di trattamento a copolimeri, allo scopo di trattare i composti perfluoroalchilici prima di essere poi inviate all'impianto chimico fisico e quindi allo scarico in fognatura.

Successivamente, a partire dal mese di ottobre 2016, le acque emunte dalla barriera esterna, posta a sud dello stabilimento, vengono convogliate in un unico collettore e filtrate da un sistema di tre filtri a carboni attivi, in parte di origine minerale e in parte di origine vegetale, con un potenzialità totale di 60 mc/ora ciascuno e 24 mc/h/filtro. Dopo filtrazione, alcune acque vengono inviate alla vasca di accumulo a servizio dello stabilimento e, in parte, vengono scaricate nel torrente Poscola.

Le acque emunte dai pozzi interni allo stabilimento sono raccolte in due serbatoi di accumulo e quindi rilanciate a un sistema di filtri, che è uguale a quello previsto per la barriera sud esterna (60 mc/ora ciascuno e 24 mc/h/filtro).

Quindi, le acque in uscita da questo secondo sistema di filtri della barriera interna vengono inviate alla vasca di accumulo assieme alle acque provenienti dall'altra barriera e qui utilizzate a servizio dello stabilimento ovvero scaricate in Poscola.

I pozzi MW04 e MW24 rilanciano l'acqua all'impianto a copolimeri e da qui l'acqua, dopo essere stata trattata, viene inviata all'impianto interno di trattamento chimico fisico delle acque reflue per il trattamento successivo, prima dell'invio all'impianto consortile di Trissino, tramite fognatura.

Complessivamente, dal mese di luglio 2013 al mese di agosto 2016 sono stati estratti 22,6 kg di PFOA, 5,4 kg di PFOS e 17,5 kg di altri PFAS per un totale di circa 45,5 kg.

L'efficacia del sistema di filtrazione è monitorata tramite campionamenti mensili delle acque in uscita all'impianto, eseguiti da un laboratorio esterno.

A sua volta, la Miteni esegue anche internamente delle verifiche settimanali allo scopo di pianificare il cambio dei filtri quando viene raggiunto un valore di azione pari al 90 per cento del limite di accettabilità per i singoli composti perfluorurati.

Da indicazioni fornite dalla Miteni, di solito, il cambio dei carboni avviene quando tale valore viene superato per un composto a 4 atomi di carbonio che risulta essere quello più difficile da trattenerne dai filtri, pur se ancora funzionante per quelli a 8 atomi.

Attualmente, la barriera risulta essere costituita da 20 pozzi, in continuo emungimento, con una portata di progetto di prelievo di circa 360 metri cubi/h.

Allo scopo di monitorare l'efficacia della barriera idraulica, è stato progressivamente ampliato anche il numero di piezometri di controllo posti all'esterno del sito, in considerazione del fatto che la barriera idraulica è stata costruita a ridosso del confine aziendale.

Infatti, inizialmente, subito a ridosso del sito, in area che non è di proprietà della ditta Miteni, era stato realizzato un piezometro (MW17), che però risentiva ancora degli effetti di emungimento della barriera e non era quindi utilizzabile per lo scopo. Pertanto, nel 2014, è stato realizzato il piezometro MW18, posto circa 200 metri a sud del confine aziendale. Tale piezometro viene monitorato mensilmente da ARPA e dalla società Miteni, la quale, a volte, esegue anche monitoraggi con una frequenza maggiore.

I risultati analitici dei campioni prelevati da ARPAV sono riportati in tabella 3 sottostante.

Data del prelievo	Numero del campione	PFBA (ng/l)	PFBS (ng/l)	PFOA (ng/l)	PFOS (ng/l)	Somma PFAS (ng/l)
22/09/2014	393434	1180	3400	7937	1765	16075
22/01/2015	412399	1140	1945	5113	1070	10298
03/02/2015	414421	424	938	4697	641	7375
23/04/2015	428675	724	1533	3994	770	8086
28/05/2015	435384	760	2150	3947	1040	8803
25/06/2015	440232	953	2700	4217	1320	10498
29/07/2015	446212	946	1710	3207	639	7343
27/08/2015	451078	878	667	1693	197	4050
30/09/2015	456934	767	675	1877	245	4306

28/10/2015	462228	2630	6350	9177	2185	23005
30/11/2015	467655	1140	3368	5213	1358	12284
22/12/2015	471156	1260	1965	4000	1115	9545
29/01/2016	475951	332	254	918	172	1923
29/02/2016	480999	4470	4498	11770	3925	26992
31/03/2016	486410	1560	4040	13680	2150	23393
28/04/2016	491226	689	1045	3273	983	6641
31/05/2016	497477	743	535	2600	903	5338
24/06/2016	501722	729	1375	3457	1040	7209
26/07/2016	507413	343	500	1022	358	2449
25/08/2016	512276	801	1475	2950	670	6529

Tabella 3 Risultati analitici piezometro MW18

La tabella sopra riportata, concernente il piezometro di controllo, rivela che nelle acque di falda il limite di 500 ng/l, stabilito per il PFOA, quale valore massimo di CSC nelle acque di falda, dall'Istituto superiore di sanità e fatto proprio dalla regione Veneto, viene costantemente superato, con valori significativi. L'ultimo dato acquisito del mese di agosto 2016 segna un valore di 2950 ng/l, pari a circa 6 volte il limite massimo fissato dalla regione Veneto.

Tutto ciò senza considerare gli elevati valori del PFOS e della somma di PFAS, nel mese di febbraio, pari rispettivamente a ng/l 3925 e a ng/l 26992.

Ciò sta a significare che la barriera idraulica non tiene e che occorre eseguire altri pozzi.

Per completezza, va detto che la Miteni ha realizzato altri due piezometri di controllo uno, denominato MW25, eseguito nel mese di maggio 2016, posto circa 160 m a sud-ovest della Miteni, allo scopo di verificare eventuali presenze di contaminante in falda all'uscita della barriera legate a variazioni di direzione della falda e un altro denominato MW28, eseguito nel mese di ottobre 2016 e posto sempre all'esterno del sito, a circa 20 metri dallo stabilimento lungo il margine nord-ovest.

Di tale piezometro non si hanno però ancora risultati analitici.

L'ubicazione dei punti di monitoraggio esterni è riportata in figura 2.



Figura 2: Ubicazione punti di monitoraggio esterni

Nel valutare i risultati al punto di conformità, occorre, per un verso, considerare la distanza che intercorre tra lo stesso e la barriera idraulica e, per altro verso, che le concentrazioni misurate al punto di conformità rappresentano la situazione chimica delle acque uscite dal sito in data anteriore a quella del campionamento.

Allo stato, come confermato anche dalle prove eseguite sia dalla ditta e sia dall'ARPA Veneto, sembra che la barriera idraulica esistente non consenta un completo controllo della propagazione della contaminazione a valle dello stabilimento.

7. Il procedimento amministrativo di bonifica in corso nel sito, concernente sia la falda, sia i terreni.

Nella nota del 3 giugno 2015,⁵⁵ l'ARPA Veneto riferisce che, a seguito della notifica di sito potenzialmente contaminato, ai sensi dell'articolo 245 del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152,

⁵⁵ Doc. 476/7

era stato dato corso all'iter amministrativo previsto della normativa vigente, sicché la Miteni, nel mese di novembre 2013, aveva presentato un piano di caratterizzazione, nel quale aveva previsto la realizzazione di sondaggi e piezometri per verificare la qualità ambientale dei terreni e delle acque sotterranee. In particolare, nel set analitico di parametri proposti, da ricercare, sono state comprese non solo le sostanze normate, ma anche altri composti, tra cui i PFAS, rilevati nella prima indagine ambientale eseguita dalla Miteni.

La mancanza di limiti normativi, da considerare come concentrazione soglia di contaminazione (CSC), aveva imposto all'ARPA la necessità di richiedere alla regione Veneto chiarimenti in merito ai limiti da utilizzare per poter proseguire con l'iter di bonifica.

La regione, a sua volta, ha inoltrato la richiesta al Ministero dell'ambiente.

La risposta del Ministero poi è giunta attraverso l'ISS che, con il parere n. 23954 AMPP A12 del 23 giugno 2015, ha fissato una CSC, per i suoli ad uso industriale, pari a 5 mg/kg solo per il parametro PFOA, mentre, per quanto riguarda le CSC nell'acqua di falda, sempre con lo stesso parere, ha proposto un limite solo per il PFOA, indicando il valore di 500 ng/l.

Quest'ultimo limite è stato fatto proprio dalla regione Veneto che, con nota del 24 luglio 2016, lo ha fissato come CSC per le acque di falda.

Contestualmente, era stata avviata una fase di interconfronto tra il laboratorio ARPA Veneto e quello incaricato dalla società Miteni, per la messa a punto delle modiche analitiche, anch'esse non standardizzate.

Nel mese di giugno 2014 era stato approvato il piano di caratterizzazione suddiviso in due fasi, di cui la prima, da realizzarsi entro agosto 2014, era finalizzata alla raccolta di campioni per mettere a punto le metodiche analitiche da applicare per i parametri non normati sia per i terreni, sia per le acque sotterranee. Nel successivo mese di agosto 2014 erano stati realizzati un piezometro, due sondaggi e due trincee in corrispondenza delle aree che, in base alla ricostruzione storica effettuata in sede di presentazione del piano di caratterizzazione, erano state ritenute a maggior impatto.

Nell'esecuzione della prima fase del piano di caratterizzazione erano stati analizzati diciannove campioni di terreno, di cui 6 con controcampioni ARPA; dai primi risultati analitici era emersa una totale conformità dei terreni per i limiti normativi previsti dal decreto legislativo 3 aprile 2006, n.152.

Tra il mese di dicembre 2014 e il mese di febbraio 2015 si è proceduto, dopo una successiva verifica e confronto tra laboratori, all'esecuzione della seconda fase del piano di caratterizzazione.

Nella seguente tabella si riportano i valori massimi dei composti perfluoroalchilici misurati nei sondaggi eseguiti nei terreni nel corso dei campioni previsti per il piano di caratterizzazione; per i risultati estesi si rimanda alla documentazione consegnata dalla ditta relativa ai risultati del piano di caratterizzazione.

PARAMETRO	VALORE MASSIMO (mg/kg ss)
Acido Perfluorobutanoico	0,750
Acido Perfluoropentanoico	0,889
Acido Perfluoroesanoico	0,822
Acido Perfluoroeptanoico	0,700
Acido Perfluorottanoico	5,947
Acido Perfluorononanoico	0,500
Acido Perfluorodecanoico	0,857
Acido Perfluoroundecanoico	0,500
Acido Perfluorododecanoico	0,500
Acido Perfluorobutansolfonico	1,950
Acido Perfluoroesansolfonico	0,739
Acido Perfluoroeptansolfonico	0,644
Acido Perfluoroottansolfonico	3,343

Tabella n.4: Valori massimi di PFAS misurati nei terreni in fase di caratterizzazione

Nei campioni eseguiti, un solo punto è risultato superare questo valore, ma, trattandosi di un campione non prelevato da ARPAV, è stata quindi aperta la terza aliquota che è stata analizzata sia dalla ditta che da ARPAV, e i risultati di entrambi i laboratori sono stati inferiori a 5 mg/kg.

Non sono stati invece misurati superamenti delle CSC ai sensi del decreto legislativo n. 152 del 2006 per i parametri normati previsti dal piano di caratterizzazione.

Per completare ulteriormente la caratterizzazione, anche alla luce di indagini di tipo geofisico realizzate dalla società Miteni, sono stati eseguiti nel corso del 2016, in parte anche su richiesta degli Enti, ulteriori sondaggi alcuni eseguiti lungo l'argine del torrente Poscola in corrispondenza dei vecchi scarichi produttivi.

I risultati analitici relativi a tali sondaggi sono riportati nella seguente tabella:

PARAMETRO	VALORE MASSIMO (mg/kg ss)
Acido Perfluorobutanoico	0,131
Acido Perfluoropentanoico	0,075
Acido Perfluoroesanoico	0,115
Acido Perfluoroeptanoico	0,120
Acido Perfluorottanoico	8,634
Acido Perfluorononanoico	0,031
Acido Perfluorodecanoico	1,474
Acido Perfluoroundecanoico	0,051
Acido Perfluorododecanoico	0,282
Acido Perfluorobutansolfonico	0,071
Acido Perfluoroesansolfonico	0,010
Acido Perfluoroeptansolfonico	0,015
Acido Perfluoroottansolfonico	1,979

Tabella n.5: Valori massimi di PFAS misurati nei terreni dopo le prime fasi di caratterizzazione

Sulla base dei risultati emersi nel corso di questa ulteriore indagine, l'ARPA Veneto ha richiesto alla ditta Miteni di presentare un'ulteriore integrazione al piano di caratterizzazione da realizzarsi sulle sponde del torrente Poscola.

Inoltre, la società Miteni ha in corso di realizzazione dei test di lisciviazione per valutare la ripartizione tra suolo e acqua dei differenti PFAS, tali test erano stati richiesti in sede di approvazione dell'analisi di rischio come ulteriore approfondimento relativo alla matrice terreni.

Dal punto di vista dell'iter amministrativo, attualmente, la Miteni ha presentato un progetto di MISO per le acque sotterranee, che è in attesa di approvazione, in quanto le recenti indagini hanno messo in evidenza aspetti di natura sia chimica che idrogeologica che potrebbero richiedere una revisione del progetto stesso; la sua approvazione è rimandata quindi al termine delle ulteriori verifiche richieste. Per la matrice terreni alla ditta sarà richiesto di predisporre una nuova analisi di rischio sulla base delle nuove evidenze.

La ditta sta procedendo, anche su richiesta degli enti, con le attività di messa in sicurezza e di loro implementazione e miglioramento.

7.1 Ulteriori attività di caratterizzazione

Attualmente, nel sito sono in corso ulteriori attività di caratterizzazione dei terreni, che potrebbero far emergere l'esistenza di punti di inquinamento che richiederebbero un adeguamento sia dell'analisi di rischio già presentata, sia del progetto di messa in sicurezza operativa/bonifica.

Invero, l'attuale messa in sicurezza del sito, pur avendo ridotto la quantità di contaminante in uscita, non ha ancora permesso di raggiungere la concentrazione di 500 ng/l di PFOA, come previsto dal parere Istituto superiore di sanità n. 23954 del 23 giugno 2015, quale CSC per le acque.

Occorre però evidenziare che il potenziamento dell'emungimento è stato completato a ottobre 2016. Al momento non si ravvisano superamenti della CSC per gli altri punti di conformità.

Le informazioni sopra riportate sono state estratte dalla relazione dell'ARPA Veneto per il periodo di riferimento 2013-2016, e in particolare dalla relazione di sintesi.⁵⁶

8. La denuncia di ARPA Veneto alla procura della Repubblica in Venezia

Tutto ciò precisato, va detto che l'ARPA Veneto, con nota in data 8 luglio del 2013⁵⁷, aveva provveduto a presentare formale denuncia alla procura della Repubblica in Venezia e, per conoscenza, alle procure della Repubblica in Verona e in Padova, allegando quali elementi di prova

⁵⁶ Doc. n. 1543/2

⁵⁷ Allegato 1, Doc. 980/2

lo studio dell'IRSA - CNR, nonché la tabella dei campionamenti effettuati dello scarico dei cinque impianti di depurazione (Trissino, Montecchio Maggiore, Arzignano, Montebello Vicentino e Lonigo) e del corso d'acqua Fratta-Gorzone, che ponevano in evidenza il fatto sopra menzionato che l'impianto di depurazione di Trissino, a cui è allacciata la Miteni spa, contribuiva nella misura del 96,989 per cento, rispetto agli altri quattro impianti, all'apporto totale di PFAS scaricati nel Fratta-Gorzone, che gli impianti di depurazione non erano in grado di abbattere.

Invero, per dare l'idea del significativo contributo all'inquinamento, la concentrazione di PFAS del depuratore di Trissino, scaricata nel Fratta-Gorzone, è pari a 249,057 mg/mc (corrispondenti a 249.057,00 ng/l), con una quantità giornaliera di 4.816,762 g/d (in sostanza, quasi 5 chilogrammi giornalieri), a fronte della diversa concentrazione di PFAS del depuratore di Montecchio Maggiore, pari a 0,812 mg/mc (corrispondenti a 812,00 ng/l), con una quantità giornaliera scaricata nel Fratta-Gorzone di 97,384 g/d (in sostanza circa 100 grammi al giorno).

Tutto ciò si verificava, nonostante l'avvenuta installazione da parte della Miteni di un impianto di filtrazione, mediante "adsorbimento a copolimeri", con una dichiarata capacità di abbattimento di circa il 99 per cento dei PFAS.

Inoltre, l'ARPA Veneto, alla denuncia presentata, aveva allegato anche i risultati dei campionamenti, effettuati in data 3 e 4 luglio 2013, sulle acque di raffreddamento, prima di essere scaricate dalla ditta Miteni nel torrente Poscola.

Si tratta di acque che, ancora oggi, non vengono convogliate nello scarico aziendale collettate al depuratore di Trissino, ma sversate direttamente in tale torrente.

Tali acque, in teoria, dovrebbero essere già trattate e depurate dei composti perfluoroalchilici, mediante l'uso dei carboni attivi.

Nella realtà, le acque sono ancora contaminate, dal momento che la Miteni non le tratta in modo adeguato, come emerge dalla relazione dell'ARPA relativo al periodo 2013-2016, che ha rilevato alcuni superamenti dei limiti, posti in evidenza nella figura 15 del paragrafo 6.2 della stessa relazione.⁵⁸

A tale situazione, la cui elevata criticità è indubbia, deve aggiungersi la circostanza di fatto che, come sopra osservato, l'azienda Miteni è insediata in area di ricarica di falda, in presenza di un acquifero indifferenziato, sicché si deve fondatamente ritenere che questa contaminazione, non ancora definita nella sua complessità, contribuisce all'inquinamento della falda acquifera a valle.

⁵⁸ Doc. 1543/3

Infine, aggiungasi che la presenza pluridecennale sul sito di queste tipologie di produzioni fa ritenere una contaminazione di natura storica, come rilevato anche dal procuratore della Repubblica in Vicenza.

La denuncia dell'ARPA concludeva, suggerendo la necessità di disporre accertamenti tecnici peritali, finalizzati a comprovare l'origine e l'evoluzione nel tempo della contaminazione della falda da parte della Miteni spa, nonché la sussistenza degli elementi atti a suffragare l'ipotesi di reato di cui agli articoli 440 (adulterazione di sostanze alimentari) e 452 (delitti colposi contro la salute pubblica) del codice penale e le eventuali responsabilità personali.

Tuttavia, il relativo procedimento penale, incardinato presso la procura della Repubblica in Vicenza (proc. pen. 2072/13) è stato archiviato in data 25 luglio 2014, come da comunicazione del Corpo forestale dello Stato del 21 gennaio 2015.⁵⁹

Il procuratore della Repubblica presso il Tribunale di Vicenza, nel corso dell'audizione del 12 maggio 2016, nel fornire una spiegazione al provvedimento di archiviazione, ha lamentato l'esistenza di un vuoto normativo, sotto il profilo della sanzione penale, rilevando che è pur vero che il decreto legislativo 13 ottobre 2015 n. 172, nel recepire la direttiva dell'Unione europea n. 39 del 2013, ha fissato nelle acque superficiali per il PFOS - ritenuto il più pericoloso della famiglia delle sostanze perfluoroalchiliche - il limite estremamente basso e contenuto di 0,65 nanogrammi per litro, senza operare tuttavia alcun aggiornamento delle sostanze vietate, ai sensi del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152.

In realtà, ciò è vero per tutti i parametri, tranne che per la CSC in falda per il PFOA, dove il limite è stato fissato, non da un decreto dello Stato, bensì dalla regione Veneto in 500 ng/l.

Pertanto, deve essere rilevato - in piena sintonia con le puntuali osservazioni sviluppate dai rappresentanti del Consiglio nazionale delle ricerche, Stefano Polesello e Giuseppe Mininni, nel corso dell'audizione del 25 maggio 2016 - che la disciplina contenuta nel decreto legislativo n. 172 del 2015, nel riformare l'articolo 78, comma 13 del decreto legislativo n. 152 del 2006, persegue gli obiettivi: 1) della eliminazione delle sostanze pericolose prioritarie, indicate come PP (tra le quali rientrano il PFOS) alla tabella 1/A del paragrafo A.2.6 dell'allegato 1 alla parte terza, negli scarichi, nei rilasci da fonte diffusa e nelle perdite; 2) della graduale riduzione negli stessi delle sostanze prioritarie individuate come P alla medesima tabella.

⁵⁹ Doc. 980/2
63

Tuttavia, non si tratta di obiettivi immediati per tutte le sostanze. E' sufficiente considerare che per i PFOS gli standard di qualità devono essere applicati soltanto a partire dal 22 dicembre 2018, per conseguire un buono stato chimico entro il 22 dicembre 2027.

In sostanza, lo Stato italiano si è impegnato a migliorare la qualità delle proprie acque, ma non aveva introdotto una variazione alla “vacanza penale”, che permane tuttora nella specifica normativa.

In conclusione, afferma il procuratore della Repubblica in Vicenza che il limite di 0,65 nanogrammi per litro di PFOS, recepito nella legislazione italiana per le acque superficiali, non solo, è privo di attualità, ma comunque non è assistito da una previsione penale che lo tuteli, pur se deve osservarsi che il suo superamento costituisce chiaro indice di inquinamento ambientale in atto, significativo e misurabile, nell'accezione di cui all'articolo 452-*bis* del codice penale.

Quanto alla nuova disciplina sui reati ambientali, introdotta con la legge 22 maggio 2015, n. 68, il dottor Cappelleri osserva che era ben difficile acquisire la prova che, dopo il 29 maggio 2015, data dell'entrata in vigore della normativa, l'ambiente era stato alterato o distrutto, dal momento che gli sversamenti di sostanze inquinanti duravano da almeno quarant'anni, sicché i relativi reati erano stati già consumati alla data di entrata in vigore della legge, mentre - a detta del procuratore della Repubblica - la Miteni, a partire dall'anno 2015, non solo non aveva alterato o distrutto l'ambiente ma, a fronte a una distruzione già avvenuta, si era attivata a migliorare la situazione di crisi ambientale esistente.

Ancora, osserva il dottor Cappelleri, negli ultimi due anni la tipologia degli scarichi era mutata, dal momento che l'azienda non scaricava più PFOS, né PFOA perfluorooottanoico, avendo mutato la produzione, verosimilmente, non per sensibilità ecologica, bensì per diversa richiesta del mercato, in quanto la Miteni produceva un altro degli elementi della famiglia PFAS, denominato a catena corta. Non più, quindi, la produzione di 8 atomi legati, bensì la produzione di 4 atomi legati, con una sensibile riduzione dei rischi per la salute umana.

Invero, ha affermato il dottor Cappelleri che, mentre il PFOS o il PFOA hanno, secondo studi abbastanza consistenti, una permanenza nell'organismo umano, in particolare nel sangue, che va da 5 a 13 anni, la nuova sostanza permane invece “soltanto” per quindici giorni.

In realtà, deve osservarsi che la Miteni ha un comportamento omissivo, perché mentre la letteratura scientifica discute sulla minore tossicità dei composti a 4 atomi di carbonio, dal sito della Miteni continua a diffondersi l'inquinamento dei composti perfluoroalchilici a 8 atomi di carbonio, posto

che la società, a tutt'oggi, non ha ancora messo in atto misure adeguate per contrastarlo, sicché potrebbe ravvisarsi il reato di omessa bonifica, di cui all'articolo 452 *terdecies* del codice penale.

Aggiungasi inoltre che, come osserva Massimo Carmagnani, responsabile per la ricerca e lo sviluppo dell'azienda Acque Veronesi⁶⁰ i composti a catena corta, a differenza di quelli a catena lunga, non vengono (adeguatamente) trattenuti dai carboni attivi, un prodotto che, allo stato delle conoscenze scientifiche, costituisce il modo migliore per abbattere i composti perfluoroalchilici, pur se presenta costi elevati e la necessità di cambiarli con una certa frequenza, poiché nel giro di due/tre anni esauriscono la loro efficacia di trattenere gli inquinanti.

Ancora - ha proseguito il procuratore della Repubblica, nel corso della sua audizione - era pur vero che queste sostanze vengono trasmesse all'uomo dagli alimenti, in una scala anche vasta, e che si tratta di sostanze di bioaccumulo, in quanto persistono nell'organismo, tuttavia, mancava una concorde dottrina scientifica in grado di valutare le conseguenze sulla salute, con pronunce difformi di organismi internazionali e pronunce anche abbastanza recenti dell'Istituto superiore di sanità.

A proposito dell'incertezza che regna nello specifico settore, il dottor Cappelleri ha sottolineato che l'Istituto superiore di sanità, nel mese di giugno 2015, raccomandava di garantire la sostanziale rimozione di questi composti nelle acque destinate al consumo umano, indicando il limite di 30 nanogrammi per litro per i PFOS e di 500 nanogrammi per litro per le altre sostanze che appartengono alla famiglia, limiti che sono di gran lunga più elevati di quello di 0,65 nanogrammi per litro indicato per i PFOS dalla direttiva europea.

Tale differente livellamento è indicativo, con le differenze significative che ha, dell'incertezza della dottrina specifica, pur dando atto il dottor Cappelleri del fatto che i limiti presenti nelle acque contaminate erano assolutamente di molto superiori rispetto a quelli sopra indicati.

⁶⁰ Cfr. resoconto stenografico del 16 maggio 2016: "Innanzitutto vorrei ricordare che è una famiglia di composti con lo stesso nome, ma che si comportano in modo diverso. Abbiamo visto che il carbone è, attualmente, il modo migliore che abbiamo per riuscire ad abatterli. Abbiamo inoltre scoperto e dimostrato - sono numeri che abbiamo anche passato all'università - che le catene lunghe, appunto, vengono trattenute dal carbone, mentre quelle piccole sfuggono, quindi abbiamo calcolato i tempi di vita. Parliamo di circa 250 giorni di vita in caso di letto a carbone per le catene lunghe e di circa 50 giorni per le catene corte. Capite bene che con le condizioni che abbiamo attualmente riusciamo a gestire il problema, soprattutto con altri filtri. Nell'ipotesi, però, in cui arrivi negli anni un cambiamento della matrice del pozzo o dei pozzi, per cui arriverebbero solo catene corte, non ci sarebbe più niente da fare: non avremmo più il modo per trattenere questi composti. Questo è un fatto importante da ricordare. Inoltre, tendenzialmente, quando si dimensiona un filtro per trattare l'acqua destinata al consumo umano, facciamo in modo che il carbone abbia un tempo di vita fra tre anni o quattro anni per poterlo gestire. In questo caso dobbiamo continuamente sostituire massa, oltre agli ovvi costi di gestione e a un problema di messa fuori servizio dell'impianto nel momento in cui cambiamo la massa: questo è molto importante."

Tuttavia - ha proseguito il procuratore della Repubblica - l'unico studio acquisito è quello sui lavoratori dell'azienda Miteni, condotto dal medico aziendale stesso, che aveva dato un risultato abbastanza sorprendente, posto che dice che gli unici parametri alterati sono risultati il colesterolo e l'acido urico, il che è abbastanza banale tutto sommato, in quanto anche sostanze sanissime portano talvolta agli stessi risultati.

In realtà, come si è visto, le analisi eseguite annualmente sui lavoratori della Miteni dal professor Giovanni Costa e acquisite dalla Commissione di inchiesta appaiono largamente insufficienti e del tutto inidonee a fornire un preciso quadro della salute dei lavoratori della Miteni più esposti alle sostanze perfluoroalchiliche, posto che l'unico dato acclarato è la massiccia presenza - sebbene in diminuzione - di PFOA e PFOS nel sangue dei lavoratori, con altamente probabili effetti tossici sub-letali per la tiroide, il fegato, i reni e altri organi, in conseguenza di tali prolungate esposizioni.

Deve darsi atto che, allo stato, sussiste grande incertezza sul piano scientifico, posto che solo poco tempo addietro il composto veniva classificato come irrilevante, mentre adesso taluni lo classificano come cancerogeno e, a sua volta, un organo ufficiale, come l'Istituto superiore di sanità, si limita a dare delle semplici raccomandazioni di carattere precauzionale.

Per converso, ha concluso il procuratore della Repubblica, dall'esperienza non più scientifica, bensì macroscopica, proveniente dal territorio, non risultano particolari epidemie, posto che nessuno ha mai denunciato una significativa differenza rispetto alle medie nazionali dell'incidenza di tumori. Di conseguenza, mancando la prova di una epidemia, non sussistono i presupposti per configurare l'ipotesi di reato di cui all'articolo 439 del codice penale, cioè, l'avvelenamento di acque o di sostanze destinate all'alimentazione.

Le argomentazioni del procuratore della Repubblica meritano attenzione, in quanto appaiono suffragate dalla recente giurisprudenza della Suprema Corte (sentenza n. 45001 del 19 settembre 2014, depositata il 19 ottobre 2014), secondo cui, ai fini della configurabilità del delitto di avvelenamento di acque o di sostanze alimentari, non è sufficiente l'esistenza di rilevamenti attestanti il superamento dei livelli di contaminazione CSC (concentrazioni soglia di contaminazione), di cui all'articolo 240, comma primo, lettera b) decreto legislativo n. 152 del 2006, trattandosi di indicazioni di carattere meramente precauzionale, il cui superamento non integra nemmeno la fattispecie prevista dall'articolo 257 decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, la quale sanziona condotte di "inquinamento", ossia causative di un evento che costituisce evidentemente un "minus" rispetto all'ipotesi di "avvelenamento".

Pertanto, il termine “avvelenamento”, che ha pregnanza semantica, tale da renderne deducibile in via normale il pericolo per la salute pubblica, non può riferirsi che “a condotte che, per la qualità e la quantità dell’inquinante, siano pericolose per la salute pubblica (vale a dire potenzialmente idonee a produrre effetti tossico-nocivi per la salute)”.

Conclude la Suprema Corte che, per ritenere la sussistenza del reato di avvelenamento di acque o di sostanze destinate all’alimentazione “detta pericolosità (per la salute pubblica) deve dunque potersi ritenere scientificamente accertata, nel senso che deve essere riferita a dose di sostanza contaminante alla quale le indagini scientifiche hanno associato effetti avversi per la salute”

In tale contesto normativo/giurisprudenziale e tenuto conto del fatto che, per questi composti, manca la valutazione delle concentrazioni della soglia di rischio (CSR), il procuratore della Repubblica in Venezia ha dichiarato di essere in attesa di acquisire i dati del monitoraggio disposto dalla regione Veneto nel 2015 sulle conseguenze delle sostanze perfluoroalchiliche sulla salute della popolazione residente, per ogni possibile iniziativa di carattere penale, non volendo sovrapporsi alle iniziative della regione Veneto, duplicandone in qualche modo l’attività, con una consulenza tecnico-medica sulla stessa popolazione, consulenza di livello scientifico estremamente elevato, che imporrebbe il ricorso a consulenti tecnici in ambito extra-nazionale.

I risultati del monitoraggio regionale sarebbero stati valutati con estrema attenzione dalla procura della Repubblica, posto che, se dal monitoraggio effettuato emergesse “un’alterazione significativa”, tutto il quadro sarebbe cambiato sotto il profilo penalistico e sarebbe possibile per la procura della Repubblica partire con azioni incisive, una volta acquisita una prova di tal genere.

In sostanza, per chiudere questo *excursus*, il dottor Cappelleri ha manifestato, allo stato, serie difficoltà al rinvenimento di strumenti penali applicabili alla concreta fattispecie, il che gli suggeriva, in questo momento, una fase di ricognizione del fenomeno e di approfondimento dei profili tecnico-scientifici che lo caratterizzano.

Infine, il procuratore della Repubblica ha comunque riconosciuto testualmente che le sostanze - per quello che ci dicono - permangono e permarranno per quasi cento anni nell’ambiente prima di degradarsi. È evidente, dunque, che le sostanze che vengono sversate da tempo rimangono. In questo momento, sono di qualità peggiore rispetto agli sversamenti attuali. Ciò non significa che gli sversamenti attuali siano giustificabili, ma il problema di sanità pubblica principale in questo momento è quello di lungo periodo di cui dicevo.⁶¹

⁶¹ Pag. 17, ultimo capoverso del resoconto stenografico dell’audizione

Non v'è dubbio, alla luce di quanto rappresentato dal procuratore della Repubblica in Vicenza che si versa in una situazione di stallo, tanto più che Gianpaolo Bottacin, assessore all'ambiente e alla protezione civile della regione Veneto, nel corso dell'audizione del 10 maggio 2016, ha dichiarato testualmente: "Per quanto riguarda, invece, lo studio epidemiologico, è necessario far fronte a un'analisi approfondita. Come dicevo, il numero di persone coinvolte dall'esposizione a questo tipo di sostanze è molto rilevante (circa 250.000 persone) e, quindi, è necessario monitorarle costantemente, con una serie di esami che garantiscano un'adeguata azione preventiva nel caso in cui alcuni parametri denotassero delle insufficienze o delle criticità dal punto di vista sanitario. Io non so dare un dato preciso su questo, ma stiamo parlando di centinaia di milioni di euro. Non sono in grado di sapere per quanto tempo dovranno essere monitorate queste persone".⁶²

Raniero Guerra, direttore generale della direzione prevenzione sanitaria presso il Ministero della salute, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016, ha riferito che, in effetti, era in corso una fase di studio da parte della regione Veneto, con un piano molto complesso e alquanto oneroso anche dal punto di vista della finanza.

Vi erano circa 27.000 abitanti compresi in nove comuni, dove lo studio epidemiologico prevede uno *screening* di primo livello su 80.000 persone, di secondo livello su un campione più ristretto, con una chiamata attiva della popolazione, e quindi una valutazione biomarker.

Si tratta di indagine volta a fornire ulteriori elementi di discussione e di arricchimento di quanto Commissione europea e OMS stanno eseguendo.

Il dottor Guerra ha quindi precisato che la fase dello studio di biomonitoraggio si era conclusa il 2 maggio del 2016 e che la regione Veneto in quella data aveva trasmesso al Ministero della salute i risultati e le prime elaborazioni relative alla determinazione della concentrazione di biomarcatori e l'analisi genetica di una variante allelica del trasportatore renale, in qualche modo coinvolto nel metabolismo dei PFAS. Nell'occasione, la regione Veneto aveva comunicato al Ministero l'intenzione di aprire un secondo accordo di collaborazione con l'Istituto per quanto riguarda l'identificazione delle matrici alimentari.

In conclusione, salvo il sopraggiungere di fatti nuovi, come quelli legati al biomonitoraggio della popolazione residente la situazione appare bloccata, a dispetto dell'inquinamento idrico che procede inesorabilmente.

⁶² Pag. 21 del resoconto stenografico

Tornando all'attuale situazione di fatto, va rilevato che, sicuramente, è necessaria una barriera idraulica idonea ed efficace sul sito della Miteni, allo scopo di contenere l'inquinamento dai PFAS.

Si tratta di barriera che - osserva lo stesso procuratore della Repubblica - non passa dai depuratori i quali, com'è emerso in modo pacifico, non sono attrezzati. Sul punto, è sufficiente considerare dal depuratore di Trissino proviene il 97 per cento delle emissioni di PFAS, in quanto il depuratore su tale sostanza nulla depura.

9. La verifica di conformità all'autorizzazione integrata ambientale.

In data 20 gennaio 2015, un gruppo di tecnici della prevenzione ARPA Veneto ha condotto una ispezione presso la Miteni spa, finalizzato alla ricerca dei PFAS e alla verifica di quanto riportato nell'autorizzazione integrata ambientale per gli scarichi nel torrente Poscola delle acque utilizzate per il raffreddamento degli impianti.

Le conclusioni del rapporto tecnico hanno posto in evidenza il rispetto delle prescrizioni, pur sottolineando che, per mantenere le stesse, occorre una corretta e costante gestione dei sistemi di filtrazione in essere. A tale scopo, in sede di verifica, è stato richiesto alla società di produrre una nota sulle azioni messe in atto e previste.

L'ARPA Veneto, nella propria relazione tecnica relativa al periodo di riferimento, 25 giugno 2013 - 20 gennaio 2015,⁶³ rappresenta quanto segue:

- 1) relativamente allo scarico del collettore A.Ri.C.A. nel fiume Fratta, nel comune di Cologna Veneta, il risultato analitico, posto in evidenza dalla nota del Direttore dipartimento di prevenzione come somma dei 12 PFAS, non risulta essere il maggiore dei valori rinvenuti, essendo peraltro seguito da un *trend* in diminuzione, sia in concentrazione, sia in flusso di massa. Ponendo poi l'attenzione sui 4 PFAS più significativi, risulta evidente che la presenza dei composti a 8 atomi di carbonio (PFOA e PFOS) è andata scemando nel tempo ed è stata sostituita dalla presenza di composti a 4 atomi (PFBA e PFBS);
- 2) relativamente al fiume Fratta, in corrispondenza dello scarico del collettore A.Ri.C.A., è stata confermata la presenza di PFAS, anche a monte del collettore, con valori dello stesso ordine di grandezza rispetto ai prelievi a valle che, in determinati periodi, risultano anche inferiori. Ciò deriva dalla complessità del sistema idrico superficiale,

⁶³ Doc. 476/7

influenzato sia dagli scambi indotti da prelievi dalle falde per diversi usi, che poi vengono recapitati nel reticolo superficiale, sia dagli scambi dalle acque superficiali ai terreni (quindi alle falde) e ciò a causa dell'intensa attività irrigua e della diluizione ad opera di affluenti privi di PFAS;

- 3) relativamente ai cinque depuratori afferenti al collettore consortile A.Ri.C.A., l'ente gestore, già a partire dal mese di settembre 2013, ha imposto un limite di concentrazione al depuratore di Trissino, cui recapitano le acque reflue della ditta Miteni. Al sistema dei depuratori afferiscono altre fonti di pressione ambientale (ad esempio, industrie galvaniche e concerie), che utilizzano i PFAS nei propri cicli produttivi (in particolare, PFBS per le concerie e PFOS per le galvaniche). Una quota parte di contaminanti deriva dagli scarichi di quelle aziende che, prelevando acqua sotterranea contaminata da PFAS, la utilizzano a scopo produttivo, per poi scaricarla in fognatura;
- 4) comunque, a partire dal 10 settembre 2013, i valori allo scarico del depuratore di Trissino hanno mostrato il rispetto dell'ordinanza A.Ri.C.A., con valori decrescenti nel tempo, pur in presenza di valori elevati della somma PFAS, particolarmente nel periodo compreso tra luglio e settembre 2014;
- 5) contributi minori allo scarico del collettore A.Ri.C.A. derivano, nell'ordine, dagli scarichi dei depuratori di Arzignano, Montebello Vicentino e Lonigo, mentre è di scarsa rilevanza il contributo del depuratore di Montecchio Maggiore;
- 6) con riferimento alla ditta Miteni spa, i due scarichi produttivi sono regolati, per quanto riguarda la fognatura, da un provvedimento dell'Alto Vicentino Servizi Spa che è l'ente gestore del depuratore di Trissino, in data 12 agosto 2013 e, per quanto riguarda il torrente Poscola, dal decreto AIA della regione n. 59 del 30 luglio 2014;⁶⁴
- 7) i limiti posti da Alto Vicentino Servizi Spa non sono mai stati superati dopo il 10 settembre 2013 e risulta confermato quanto già sopra riportato per lo scarico del collettore consortile e, cioè, che la presenza dei composti a 8 atomi di carbonio, PFOA e PFOS, è andata scemando nel tempo, sostituiti dai composti a 4 atomi, PFBA e PFBS.

⁶⁴ Doc. 1281/1 e doc. 1281/2

Peraltro, merita di essere sottolineato quanto, nel corso dell'audizione del 16 maggio 2016, ha riferito Massimo Carmagnani, responsabile per la ricerca e lo sviluppo dell'azienda Acque Veronesi Spa e, cioè, che mentre le catene lunghe vengono tratteneute dal carbone, non altrettanto accade per le catene corte, sicché, pur prendendo atto del fatto che le catene corte hanno 50 giorni di vita, rispetto alle catene lunghe che ne hanno 250 giorni, allo stato, sembra esclusa la possibilità di trattenere gli atomi di carbonio a catena corta, mediante l'utilizzo dei carboni attivi o di altra tecnologia.

Il più recente prelievo ARPA Veneto, effettuato in data 20 gennaio 2015, ha mostrato il rispetto del limite. Il limite posto dalla regione per lo scarico nel torrente Poscola è da verificarsi su base statistica entro il primo anno dal rilascio dell'autorizzazione integrata ambientale.

Successivamente, l'ARPA Veneto, con nota in data 28 dicembre 2015⁶⁵, ha fatto pervenire - con riferimento al periodo 25 giugno 2013 - 20 ottobre 2015 - un aggiornamento della situazione, che ha confermato la diminuzione delle fonti di inquinamento, con la diminuzione della presenza dei composti a 8 atomi di carbonio, PFOA e PFOS, sostituita dalla presenza di composti a 4 atomi, PFBA e PFBS, nei cinque depuratori afferenti al collettore consortile A.Ri.C.A., nel fiume Fratta e negli scarichi produttivi della Miteni Spa. Nel mese di maggio 2015 è stato registrato un superamento dei valori del PFAS nel depuratore di Trissino, nel quale vengono recapitate le acque reflue della Miteni e pur se i controlli di ARPA, eseguiti sugli scarichi della Miteni, recapitati nel torrente Poscola pongono in evidenza due superamenti di limiti, in data 30 ottobre 2014 e in data 11 dicembre 2014 per PFOA.

La nota dell'ARPA Veneto conclude, affermando che il limite posto dalla regione con l'autorizzazione integrata ambientale per lo scarico nel torrente Poscola sarebbe stato verificato nel corso dell'ispezione programmata per l'inizio del 2016 e che “nel merito del procedimento di bonifica in atto si evidenzia che, a conclusione della conferenza di servizi, è stata approvata l'analisi di rischio, con la conseguente richiesta di procedere con la presentazione del progetto di bonifica/messa in sicurezza operativa, relativamente al comparto acque sotterranee”.

10.L'attuale estensione territoriale delle sostanze perfluoroalchiliche

⁶⁵ Doc. 945/2

Il dottor Francesco Rombaldoni, sostituto procuratore della Repubblica presso il tribunale di Verona, nel corso dell'audizione del 7 luglio 2016, ha riferito di un procedimento a carico di ignoti, iscritto presso il suo ufficio, per inquinamento colposo da PFAS, che ha investito 14 comuni dell'area est della provincia di Verona, ai confini con la provincia di Vicenza, ma con una "lingua di inquinamento" che si estende verso sud, fino ad arrivare al comune di Villa Bartolomea, distante oltre trenta chilometri dalla Miteni, ai limiti della provincia di Rovigo, che lambisce nelle vicinanze anche Padova.

Il procedimento penale aveva preso avvio nel 2015, in seguito a una segnalazione del comune di Cologna Veneta, in relazione alla qualità delle acque che era stata constatata sul fiume Fratta, in corrispondenza del collettore dell'A.Ri.C.A.. Inoltre, la situazione nel comune di Cologna Veneta era stata segnalata anche da una ONLUS, il gruppo di intervento giuridico che si occupa anche di problematiche ambientali.

Nell'informativa della sezione di polizia giudiziaria, quella preliminare effettuata dopo che era pervenuta la prima notizia di reato, veniva adombrata la possibilità che vi fosse un pericolo di diffusione degli PFAS anche molto più esteso in ragione dell'utilizzo e della diffusione del compost.

L'ufficiale dell'ARPA, ancora in forza alla sezione di polizia giudiziaria della procura della Repubblica, aveva segnalato anche la possibilità che, se venivano immesse nel circolo naturale dell'acqua anche tutte queste sostanze, che peraltro fino a poco tempo fa non venivano neanche cercate né controllate, e quindi finivano nelle acque reflue che poi confluivano nel depuratore, sussisteva una buona possibilità che finissero nei fanghi provenienti dal ciclo di depurazione, i quali - una volta prelevati e trattati - potevano essere trasformati in *compost* e utilizzati per la fertilizzazione di aree molto più ampie, non solo quelle poste nelle adiacenze dello stesso depuratore, con conseguente inquinamento più vasto del territorio.

A tale proposito, il dottor Rombaldoni ha citato il caso accertato nel 2011, quando era stata rilevata una presenza abbastanza importante e preoccupante di PFAS presso l'area di servizio Scaligera sud dell'autostrada A4, posta nelle vicinanze dell'uscita del casello di Soave.

A motivo dell'elevata concentrazione di PFAS solo in quel sito, gli operanti ipotizzavano che la situazione di inquinamento non fosse stata determinata da un fenomeno naturale o pseudo-naturale, ma molto probabilmente dalla scarico di una cisterna che si era fermata nel parcheggio e di notte e aveva effettuato l'illecita operazione.

Dunque, sussiste concretamente il rischio che fanghi inquinati da sostanze perfluoroalchiliche vengano interrati come rifiuti, come accertato nel caso sopra rappresentato, ovvero utilizzati in agricoltura, come era emerso in due piezometri posizionati in località Cadidavid, alla periferia di Verona, dove insisteva una cartiera.

Si è trattato, comunque, di due episodi isolati, pur se all'evidenza sussiste il problema dell'utilizzo dei fanghi contaminati dai PFAS nei depuratori.

Ritornando al tema principale delle acque contaminate, il dottor Rombaldoni ha riferito che le indagini svolte dal NOE dei Carabinieri e dall'ARPA Veneto - mediante l'esame dei depuratori gestiti dall'A.Ri.C.A. installati nella provincia di Vicenza, che confluiscono nel condotto dell'A.Ri.C.A., che sfocia in Cologna Veneta, quindi, nel territorio veronese - hanno appurato che il depuratore di Trissino, dove scarica la Miteni, aveva la stragrande maggioranza di PFAS, sebbene non l'esclusività.

Ciò era dovuto non solo alla presenza nella zona di numerose concerie che possono utilizzare tali composti nell'attività produttiva, quanto soprattutto a causa del pescaggio delle acque sotterranee - già inquinate dalla stessa Miteni - che, dopo essere state utilizzate dalle industrie della zona nella loro attività produttiva, ovvero acque di raffreddamento vengono reimmesse, dopo l'uso, ancora inquinate nel ciclo e nella fognatura.

Ha proseguito il dottor Rombaldoni che, dalle indagini eseguite, è emerso che la fonte di inquinamento di questi PFAS, con la loro immissione nel territorio e nelle acque, è triplice.

Una è rappresentata dalle acque di raffreddamento ancora utilizzate dalla Miteni, che vengono scaricate nel torrente Poscola, per le quali da qualche anno vigono limiti delle concentrazioni ovvero limiti di *performance* indicati e adottati nell'autorizzazione integrata ambientale, che la regione Veneto ha concesso.

Un'altra fonte di inquinamento, la più preoccupante e più difficile da eliminare, è quella della penetrazione di materiale, forse interrato, forse no, risalente a partire da 45-50 anni fa, nel sottosuolo della ditta che, lentamente, attraverso il terreno granuloso e ghiaioso, è sceso raggiungendo la falda sotterranea, da dove si estende con una certa lentezza.

Infine vi è la situazione che riguarda soprattutto il territorio veronese, rappresentata dall'immissione di queste sostanze attraverso gli scarichi della Miteni nel depuratore di Trissino, che vengono convogliate nel condotto dell'A.Ri.C.A., dove peraltro confluiscono anche gli scarichi di altri depuratori sempre della stessa zona, che sfociano nel fiume Fratta, nel territorio di Cologna Veneta.

Quanto al processo di diffusione delle sostanze perfluoroalchiliche, il dottor Rombaldoni ha osservato che nel vicentino l'inquinamento è molto lento, in quanto avviene attraverso la falda, il terreno e il ghiaino, sicché attualmente l'inquinamento si sta dirigendo verso la città di Vicenza, che dista circa quindici chilometri dalla Miteni.

Viceversa, nel veronese la diffusione delle sostanze perfluoroalchiliche è più veloce e ciò si spiega solo con il fatto che essa avviene tramite il condotto consortile dell'A.Ri.C.A..

Invero, l'acqua inquinata del condotto consortile, una volta sfociata nel fiume Fratta, subisce altre diluizioni grazie all'apporto dell'acqua del canale L.E.B. Adige Guà, di cui si è detto, in relazione anche alle necessità di irrigazione dei terreni e, quindi, viene utilizzata per molteplici scopi.

Di conseguenza, proprio per l'irrigazione, sussiste il rischio che penetri nelle piante, negli animali e nella catena alimentare.

Inoltre, parte dell'acqua inquinata può andare nel sottosuolo ed essere oggetto di captazione dai pozzi, dal momento che nella zona insistono molti pozzi privati, parecchi dei quali non sono addirittura censiti.

A seguito della delega d'indagine da parte della procura della Repubblica di Verona, è emerso che le amministrazioni comunali di tutti i comuni interessati hanno emesso delle ordinanze, cercando di calibrare la situazione, sicché la maggior parte dei comuni ha obbligato i privati a dichiarare l'esistenza dei pozzi e a effettuare delle analisi, disponendo, in alcuni casi, il divieto di utilizzo per uso potabile dell'acqua prelevata dai pozzi privati, con l'obbligo di avvalersi dell'acquedotto comunale, che dovrebbe essere più garantito.

Il dottor Rombaldoni ha poi riferito che, allo stato, le fonti di inquinamento non sono cessate sebbene sia stata rilevata, a seguito di analisi eseguite nel corso del tempo, una diminuzione dei carichi di PFAS.

In particolare, per quanto riguarda la fonte- il depuratore di Trissino -, è stato rilevato il rispetto dei limiti imposti alla Miteni, pur se si tratta di limiti comunque molto elevati, in quanto pari a 400.000 nanogrammi per litro, come somma di PFOA e PFOS.

Dai documenti agli atti della Commissione⁶⁶ si riscontra che questo limite è stato valido fino al 24 maggio 2015.

⁶⁶ Relazione Arpa Veneto - doc. n. 1543/3, relativa al periodo 25/06/2013-04/05/2016

Successivamente, a partire dal 25 maggio 2015, data di entrata in vigore del provvedimento protocollo 2372/LAM del 22 maggio 2015 emesso da Alto Vicentino Servizi S.p.A., valgono i seguenti valori limite presso lo scarico industriale che recapita in fognatura e quindi al depuratore di Trissino:

- Acido Perfluoropentanoico (PFPeA) ≤ 15.000 ng/L;
- Acido Perfluoroesanoico (PFHxA) ≤ 50.000 ng/L;
- Acido Perfluorooottanoico (PFOA) ≤ 10.000 ng/L;
- Perfluoroottansolfonato (PFOS) ≤ 1.000 ng/L;
- Acido Perfluorobutanoico (PFBA) $\leq$ Perfluorobutansolfonato (PFBS).

Con le prescrizioni che livello di concentrazione medio annuo rilevato per ciascuno dei composti non sia superiore a quello rilevato nell'anno precedente e i campionamenti periodici evidenzino una tendenza alla diminuzione delle concentrazioni tali da garantire una media annua tendenziale inferiore a quella dell'anno precedente.

Allo stesso modo è stato rilevato un cambiamento nelle sostanze rinvenute nel corso delle analisi eseguite periodicamente nei corpi ricettori, in conseguenza della tipologia di produzione della Miteni, che è passata dalla produzione di PFAS con la catena lunga (8 atomi di carbonio), non più prodotti dal 2011, alla produzione di PFAS a catena corta, con 4 atomi di carbonio.

L'ARPA Veneto segnala che questi ultimi composti dovrebbero essere meno tossici, ma si tratta di un dato sul quale non vi sono riferimenti scientifici o letteratura, sicché, come correttamente ritiene il sostituto procuratore della Repubblica di Verona, nel dubbio, vale il "principio di precauzione".

In ogni caso - ha rilevato il dottor Rombaldoni - vi sono dei picchi che vanno al di là dei limiti dalle autorizzazioni, non solo per quanto riguarda le acque che finiscono nel canale consortile, quindi, nel fiume Fratta, ma anche per le acque del torrente Poscola e per le acque prelevate con la barriera realizzata dalla Miteni nel sottosuolo della fabbrica stessa, a seconda anche delle precipitazioni e del livello della falda freatica.

Sotto il profilo tecnico-giuridico, il magistrato ha rilevato che, per quanto riguarda lo scarico, queste sostanze non sono previste dalle varie tabelle dell'articolo 137 del testo unico sull'ambiente, che disciplina lo scarico e i limiti che devono avere le sostanze dello scarico, per cui non sussiste una fattispecie di reato perseguibile, ai sensi dell'articolo 137 del decreto legislativo n. 152 del 2006.

Peraltro, trattandosi di scarico che proviene da Trissino, la vicenda è di competenza comunque della procura della Repubblica in Vicenza.

Viceversa, il dottor Rombaldoni ha richiamato la propria attenzione su altre due norme che vengono in considerazione anche sotto l'aspetto del diritto intertemporale: una è la possibilità di ravvisare, per tutte le condotte antecedenti al maggio del 2015, la fattispecie prevista dell'articolo 434 del codice penale sul disastro innominato, come elaborata dalla giurisprudenza, mentre nelle condotte successive a tale data, possono ravvisarsi le nuove ipotesi di reato introdotte dalla legge n. 68 del 2015, quali disciplinate dagli articoli 452-bis, 452-quater o 452-quinquies, a seconda che venga ipotizzato il reato di inquinamento ambientale, di disastro ambientale o che si possa qualificare tali fattispecie come colpose.

Sotto quest'aspetto si pone un problema delicato di tempistica e, cioè, delle modalità e dei tempi di inquinamento.

Per quanto riguarda Vicenza, le caratteristiche particolari dell'inquinamento inducono a ritenere che la situazione finora constatata sia frutto di condotte molto antecedenti, forse risalenti fino a quarant'anni fa.

Viceversa per quanto riguarda la competenza territoriale della procura della Repubblica in Verona, secondo il dottor Rombaldoni, è necessario verificare se l'accelerazione che subisce la diffusione di queste sostanze, grazie al canale dell'A.Ri.C.A., possa far ritenere che i composti perfluoroalchilici oggi presenti siano stati scaricati dalla ditta dopo il maggio del 2015. In tal caso si tratta di verificare se la fattispecie applicabile non sia solo il disastro innominato precedente, di cui all'articolo 434 codice penale, bensì una delle forme di inquinamento o di disastro ambientale introdotte con la legge n. 68 del 2015.

Sul punto - ha concluso il dottor Rombaldoni - è in corso la raccolta del maggior numero di dati possibile e di informazioni e, una volta acquisiti tutti gli atti, vi saranno indagini mirate più approfondite, probabilmente, anche attraverso l'esperimento di una consulenza.

Sul punto, il dottor Rombaldoni ha sottolineato che la Miteni opera dietro autorizzazione integrata ambientale da parte della regione, che ha autorizzato la produzione di determinate sostanze, che sottopone a determinati limiti massimi entro i quali possono essere prodotte.

Di conseguenza, vi è anche questo riferimento da tenere presente nella valutazione dell'eventuale pericolosità anche sotto il profilo, che si vedrà, dell'elemento soggettivo del reato, specialmente nel momento in cui si arriverà a una contestazione di natura dolosa.

L'avverbio "abusivamente", utilizzato negli articoli e utilizzato nelle fattispecie sia del disastro (452-*quater*), sia dell'inquinamento (452-*bis*) non rappresenta ostacolo alla perseguibilità di tali reati, che sono reati non di condotta, bensì di evento che, in quanto tale, supera tutte le formalità amministrative e, dunque, anche le autorizzazioni concesse dai vari enti, a ciò preposti.

Invero, anche se sul piano formale tutto fosse regolare, il giudice in presenza di una situazione di inquinamento, può intervenire disapplicando l'atto amministrativo, ai sensi dell'articolo 4, legge n. 2248 del 1865, all. E.

In particolare, è possibile intervenire pesantemente sull'autorizzazione concessa, e quindi sull'attività formalmente lecita esercitata da una ditta, emettendo provvedimenti anche di natura cautelare, come il sequestro preventivo, che di fatto riconosce che l'autorizzazione esistente o non è legittima o comunque non risponde agli interessi del bene giuridico tutelato, per cui si impone la sospensione, esclusa la necessità di chiedere all'autorità emittente di revocare il suo provvedimento.

11. Considerazioni sui limiti ambientali.

Innanzitutto, occorre chiarire che per le acque vi sono quattro diverse discipline, concernenti rispettivamente le acque potabili, le acque superficiali, le acque di falda e quelle di scarico.

I limiti delle acque di scarico sono quelli riportati nelle tabelle dell'allegato 5, parte terza, del decreto legislativo n. 152 del 2006, sebbene i PFAS non siano compresi tra le sostanze elencate, mentre le altre acque hanno normative diverse.

Le acque potabili sono regolate dal decreto legislativo n. 31 del 2001, all'interno del quale sono riportati i limiti delle sostanze presenti ai fini del loro consumo umano.

Le acque di falda sono regolate dal titolo V della parte quarta del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, mentre i limiti degli inquinanti sono fissati dalla tabella n. 2 dell'allegato 5 alla parte quarta del sopra citato decreto legislativo.

Le acque superficiali sono regolate principalmente dal decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, e dal decreto legislativo 13 ottobre 2015, n. 172, dove sono indicati gli *standard* di qualità, ai fini della loro classificazione.

Nel caso di specie, come riportato dal direttore del dipartimento ambiente della regione Veneto, Alessandro Benassi, accade che l'acqua di raffreddamento della Miteni, unita all'acqua di seconda

pioggia, previa filtrazione, finisce nelle acque superficiali, che a loro volta percolano nell'acqua di falda idropotabile. Tale fenomeno, come ha riferito lo stesso Benassi, nel corso dell'audizione svolta il 10 maggio 2016, si verifica a causa della grande permeabilità dei terreni della zona del vicentino oggetto dell'inquinamento, costituiti principalmente da ghiaia, con la conseguenza che gli scarichi finiscono nell'acquifero indifferenziato dal quale pescano i pozzi dell'acqua potabile.

Tutto ciò, a differenza di quanto accade nella regione Emilia-Romagna, dove vi sono molti metri di argilla, che rappresentano una salvaguardia impermeabile per la falda acquifera.

Al momento, non esistono limiti allo scarico per le sostanze perfluoroalchiliche, riportati nella tabella 3 dell'allegato 5 alla parte terza del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, né esistono valori limite di CSC per le acque di falda, riportati nella tabella 2 dell'allegato 5 alla parte quarta del suddetto decreto legislativo.

Allo stato attuale, i limiti esistenti riguardano solo quelli sulle acque superficiali, come *standard* di qualità dei corsi d'acqua, recepiti nel decreto legislativo 13 ottobre 2015, n. 172, in esecuzione della direttiva europea n. 39 del 2013. In questo decreto è stato recepito anche lo *standard* di qualità europea del PFOS e del PFOA, che sono considerate sostanze prioritarie, in quanto sostanze molto pericolose.

Afferma correttamente la dottoressa Gaia Checcucci, direttrice generale del Ministero dell'ambiente, nel corso dell'audizione svolta il 26 maggio 2016, che i limiti per gli *standard* di qualità per le acque superficiali, che per il PFOS è di 0,65 nanogrammi per litro e per il PFOA è di 100 nanogrammi per litro, dovrebbero essere recepiti anche come limiti per gli *standard* di qualità anche per le acque sotterranee.

In effetti, il relativo decreto, che costituisce recepimento della direttiva comunitaria sulle acque sotterranee, dovrebbe essere all'attenzione del Parlamento presso la relativa Commissione, così come dichiarato dai rappresentanti del CNR durante l'audizione del 25 maggio 2016.

Queste sostanze sono state inserite nella tabella 1/B del decreto legislativo n. 172 del 2015, la tabella che riguarda le sostanze di interesse nazionale. La circostanza è stata anche confermata dalla dott.ssa Gaia Checcucci, che ha anche indicato nel mese di luglio 2016 il termine di scadenza per il recepimento della direttiva sulle acque sotterranee e, in effetti, in data 6 luglio 2016 è stato emesso il relativo decreto ministeriale, di recepimento della direttiva 2014/80/UE, che ha inserito 4 PFAS (PFPeA, PFBS, PFOA e PFOS) nella "Tabella 3 - Valori soglia da considerare per la valutazione dello stato chimico delle acque sotterranee".

Nel frattempo, però, nell'area del Veneto, dove il problema dell'inquinamento da PFAS è particolarmente grave ed esteso, appaiono urgenti e necessari gli interventi di bonifica della falda idrica, da dove si origina l'inquinamento, cioè presso lo stabilimento della Miteni, falda il cui utilizzo sta mettendo in circolo gli inquinanti in un'area più vasta. Inoltre, sarebbero urgenti gli interventi di contenimento degli inquinanti presenti negli scarichi mediante un trattamento degli stessi, allo scopo di limitarne la veicolazione nelle acque superficiali e nella fognatura.

Per raggiungere questi obiettivi è necessario che le autorità che ne hanno la potestà fissino adeguati limiti agli scarichi e definiscano le CSC per le acque di falda, anche sulla base delle indicazioni già date per queste sostanze da parte dell'Istituto superiore di sanità, il quale - con nota n. 1584 del 16 gennaio 2014, ribadita con la successiva nota n. 9818 del 6 aprile 2016⁶⁷ - ha suggerito i valori limiti da adottare allo scarico in acqua superficiale per il territorio veneto, indicando i seguenti valori: PFOS (30 ng/l), PFOA (500 ng/l), PFBA (500 ng/l), PFBS (500 ng/l) e somma di altri PFAS (500 ng/l).

Per quanto riguarda le CSC nell'acqua di falda, l'Istituto superiore di sanità, con il parere n. 23954 AMPP.IA.12, ha proposto un limite solo per il PFOA, indicando il valore di 500 ng/l.

In effetti, tale limite è stato fatto proprio dalla regione Veneto che, con nota del 24 luglio 2016, lo ha fissato come CSC per le acque di falda. Le autorità preposte a fissare i limiti sono gli enti che rilasciano le autorizzazioni allo scarico e, pertanto, sono le seguenti:

- La provincia di Vicenza, per lo scarico dello stabilimento Miteni, con la modifica dell'autorizzazione AIA, alla quale la regione Veneto ha di recente attribuito la relativa potestà;
- La regione Veneto per lo scarico di A.Ri.C.A. nel canale Fratta Gorzone;
- Il consorzio A.Ri.C.A. per lo scarico dei depuratori consortili dei cinque comuni che scaricano nel suo collettore;
- I depuratori consortili per gli utenti che confluiscono in essi.

Viceversa, per quanto riguarda la fissazione delle CSC nella falda, il compito spetta al Ministero con uno specifico decreto o, in alternativa, alla regione Veneto sulla base dei pareri espressi dall'Istituto superiore di sanità, come in effetti la regione Veneto ha fatto per i PFOA (ma avrebbe potuto fare anche per gli altri PFAS).

⁶⁷ Doc.1248/1

Tutto ciò precisato, in via generale va detto che, quanto ai limiti dello scarico della Miteni nel torrente Poscola, nel bollettino ufficiale della regione Veneto (BUR) n. 96 del 7 ottobre 2014 è stato pubblicato il decreto del direttore del dipartimento ambiente, n. 59 del 30 luglio 2014, di rilascio dell'AIA alla Miteni, con il relativo allegato.⁶⁸

Con tale decreto la regione Veneto ha fissato i limiti allo scarico delle acque di raffreddamento e di dilavamento provenienti dallo stabilimento della Miteni nel torrente Poscola, prescrivendo quelli indicati dall'Istituto superiore di sanità.

I limiti fissati dalla regione per lo scarico della Miteni nelle acque superficiali (torrente Poscola) sono i seguenti: PFOS: 30 ng/l (0,03 µg/l), PFOA: 500 ng/l (0,5 µg/l) e altri PFAS: 500 ng/l (0,5 µg/l).

In base all'A.I.A., tali limiti rappresentano un obiettivo da raggiungere per gradi, utilizzando le migliori tecniche disponibili - anche se di tipo sperimentale - ma, in ogni caso, entro un anno la Miteni dovrà rispettare i seguenti obiettivi: PFOS + PFOA: 500 ng/l (0,5 µg/l), altri PFAS: 500 ng/l (0,5 µg/l).

Ciò significa che entro un anno si deve rispettare solo questo limite, cioè la somma PFOS + PFOA = 500 ng/l, quindi il limite sul solo PFOS di 30 ng/l non si deve rispettare da subito, ma con gradualità, senza peraltro indicare un tempo certo.

Viceversa, accade che Alto Vicentino Servizi Spa, con riferimento agli scarichi in fognatura, di sua competenza, ha fissato per l'utente Miteni il limite di 400.000 ng/l, come somma di PFOA + PFOS, a partire dal 31 agosto 2013 fino al 24/05/2015, e successivamente, a partire dal 25 maggio 2015, data di entrata in vigore del provvedimento protocollo 2372/LAM del 22 maggio 2015 emesso da Alto Vicentino Servizi Spa sono stati fissati i seguenti valori limite:

- acido perfluoropentanoico (PFPeA) ≤ 15.000 ng/L;
- acido perfluoroesanoico (PFHxA) ≤ 50.000 ng/L;
- acido perfluoroottanoico (PFOA) ≤ 10.000 ng/L;
- perfluoroottansolfonato (PFOS) ≤ 1.000 ng/L;
- acido perfluorobutanoico (PFBA) $\leq$ perfluorobutansolfonato (PFBS): livello di concentrazione medio annuo rilevato per ciascuno dei composti non sia superiore a quello rilevato nell'anno recedente e i campionamenti periodici evidenzino una

⁶⁸ Cfr. Doc.1281/1 e Doc. 1281/2

tendenza alla diminuzione delle concentrazioni tali da garantire una media annua tendenziale inferiore a quella dell'anno precedente.

Con le prescrizioni ulteriori viene stabilito che il livello di concentrazione medio annuo rilevato per ciascuno dei composti non sia superiore a quello rilevato nell'anno precedente e che i campionamenti periodici mettano in evidenza una tendenza alla diminuzione delle concentrazioni tali da garantire una media annua tendenziale inferiore a quella dell'anno precedente .

Si tratta, comunque, di limiti di gran lunga superiori rispetto ai parametri suggeriti dall'Istituto superiore di sanità, il quale, come si è visto, ha indicato per il PFOS il limite di 30ng/l, per il PFOA 500ng/l.

Dunque, non v'è dubbio che spetta alla regione Veneto – ma anche al Ministero dell'ambiente, come si preciserà di seguito - fissare i limiti allo scarico, come ribadito dalla dottoressa Gaia Checcucci, direttrice generale del Ministero dell'ambiente, la quale, ancora nel corso dell'audizione del 26 maggio 2016 innanzi alla Commissione, ha richiamato i poteri della regione derivanti dall'articolo 101 del decreto legislativo 3 aprile 2006, n.152.

Del resto, come si è sopra osservato, la regione, nell'autorizzazione AIA rilasciata alla Miteni, ha fissato i limiti per lo scarico delle sostanze perfluoroalchiliche solo nel torrente Poscola, mentre ha lasciato alla determinazione del gestore del depuratore la fissazione dei limiti per lo scarico in fognatura.

Ora, considerato che Alto Vicentino Servizi Spa ha fissato valori limiti altissimi - che prescindono del tutto dalle indicazioni del Istituto superiore di sanità - sarebbe opportuno l'intervento immediato della provincia di Vicenza, attualmente competente, per fissare i limiti allo scarico della Miteni in fognatura, modificando, sul punto, l'autorizzazione AIA, in conformità ai valori di concentrazione suggeriti dall'Istituto superiore di sanità.

Pertanto, non appaiono condivisibili le affermazioni rese sul punto dall'assessore all'ambiente della regione Veneto, Gianpaolo Bottacin, il quale, nel corso dell'audizione del 10 maggio 2016, ha riferito che la regione non può intervenire sugli scarichi delle sostanze considerate inquinanti pericolosi, in base al presupposto per cui, alla stregua dell'articolo 101, comma 1, del decreto legislativo 3 aprile 2006, n.152, le sostanze perfluoroalchiliche non rientrano nella tabella di quelle considerate sostanze inquinanti pericolose, di cui alla tabella 5 dell'allegato 5, parte terza, dello stesso decreto legislativo.

In ogni caso, non è condivisibile l'affermazione secondo cui la regione Veneto non può fissare limiti, in quanto ciò rientra nella normale potestà normativa regionale, rafforzata dalla riforma costituzionale del 2001 sui poteri delle regioni. E' comunque pacifico che, nella specie, si è fuori da ogni ipotesi di intervento legislativo, bensì si è in presenza di provvedimenti da assumere con atti normativi secondari (decreti, regolamenti, dgr, linee guida, ecc..).

A titolo di esempio, si ricorda che la regione Lombardia, nel mese di agosto del lontano 1996, con la delibera di giunta regionale n. 6/17252⁶⁹, ha approvato una circolare, contenente gli *standard* di qualità dei suoli, anche a protezione delle acque di falda, per la bonifica dei siti del territorio regionale.

Nel caso di specie, dunque, la regione Lombardia, avendone i poteri, al pari di tutte le altre regioni, è intervenuta ben prima dell'intervento statale, il cui primo atto risale alla data del 25 ottobre del 1999, con il decreto ministeriale n. 471 del 1999, che ha stabilito i valori delle CSC per i terreni e per le acque di falda.

In realtà, le osservazioni dell'assessore Bottacin non tengono conto del fatto che la regione, con il decreto AIA n. 59 del 30 luglio 2014, sopra citato, è già intervenuta fissando i limiti delle sostanze perfluoroalchiliche dello scarico della Miteni nel corso d'acqua superficiale (torrente Poscola).

Inoltre non può non osservarsi in questa sede che, a differenza di quanto riferito dall'assessore all'ambiente, le sostanze perfluoroalchiliche appartengono alla classe dei composti organici alogenati, con la conseguenza che rientrano nell'elenco delle sostanze pericolose di cui al n. 15 (composti organici alogenati) della tabella 5 dell'allegato 5, parte terza, del citato decreto legislativo.

Va da sé che, tra i composti organici alogenati, vanno annoverati i composti organici che contengono almeno uno dei seguenti elementi: fluoro, bromo, cloro e iodio. Ora, è indubbio che i PFAS contengono per l'appunto il fluoro.

Comunque, il ragionamento formale dell'assessore Bottacin non tiene conto del dato sostanziale che le acque della falda idropotabile sono altamente inquinate dalle sostanze perfluoroalchiliche, come unanimemente riconosciuto da tutti i soggetti istituzionali intervenuti nella vicenda e, da ultimo, dagli stessi sindaci delle zone inquinate (Brendola, Sovizzo, Creazzo, Monteviale, Altavilla, Lonigo, Sarego, Montecchio, Sossano), i quali, già a partire dal mese di agosto del 2013, hanno disposto la chiusura dei pozzi inquinati utilizzati per uso idropotabile o per produzione alimentare,

⁶⁹ Doc. 1678/2

disponendo l'allacciamento alla rete pubblica dell'acqua e adottando anche per la stessa rete pubblica impianti di filtraggio a carboni attivi, installati sugli acquedotti che poi riforniscono ampie zone del territorio vicentino, gli unici in grado di trattenere le sostanze perfluoroalchiliche.

Infine va precisato che, a sua volta, il Ministero dell'ambiente avrebbe potuto fissare in via generale con apposito decreto ministeriale i limiti delle sostanze non presenti nelle tabelle del decreto legislativo n. 152 del 2006.

Di seguito, al solo scopo di fornire una prima delimitazione parziale dell'area interessata dall'inquinamento dovuto ai PFAS, si riproduce una cartina, aggiornata al 30 settembre 2013 e tratta da NEXT Quotidiano

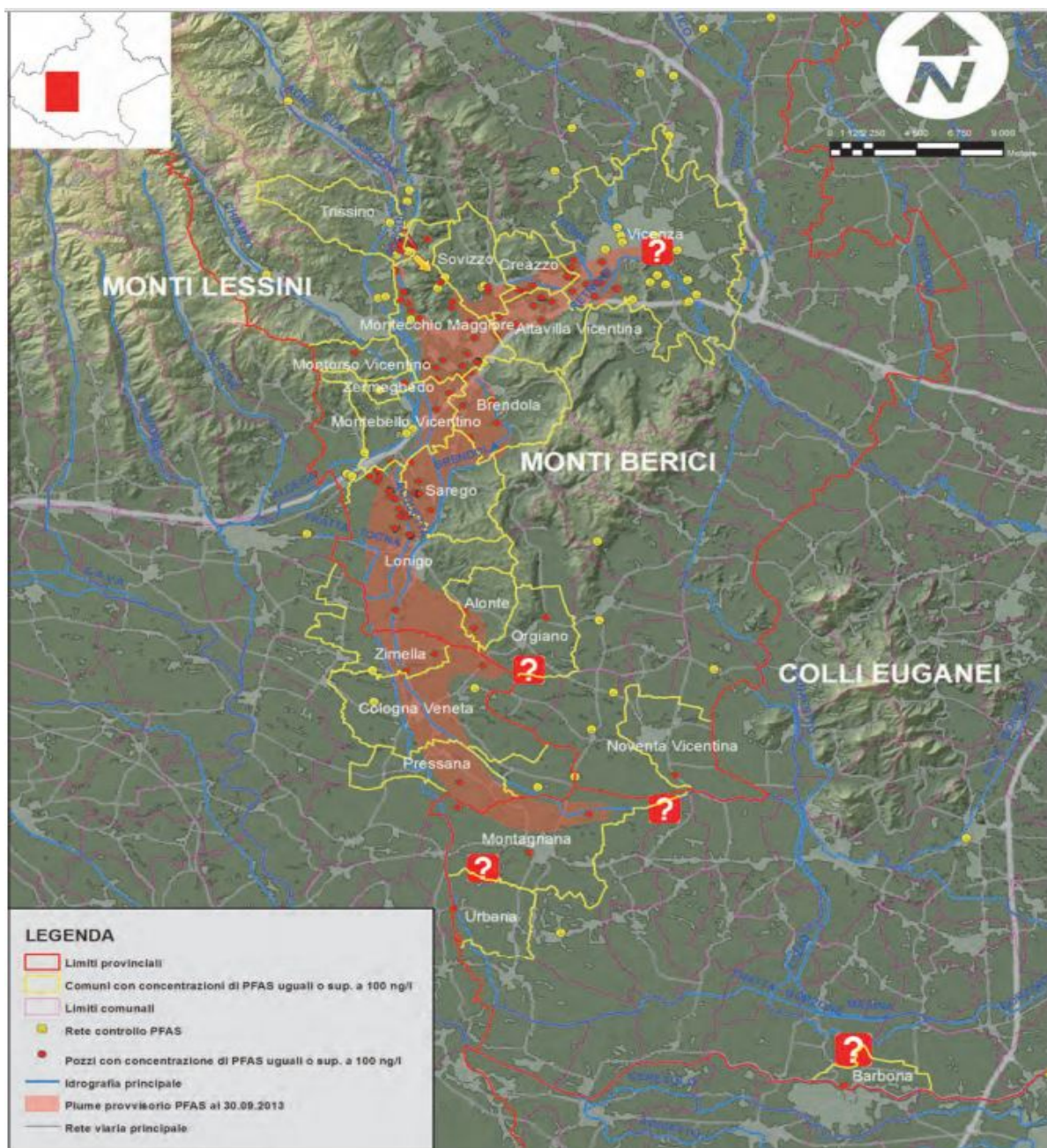


Figura 9: Prima delimitazione parziale dell'inquinamento aggiornata al 30.09.2013. Con i punti interrogativi sono evidenziate le aree di cui le informazioni non permettono ancora una delimitazione omogenea dell'area inquinata mentre con la freccia gialla in alto viene indicata la migrazione della contaminazione attraverso il versante roccioso orientale della valle dell'Agno. Nella tabella in basso a sinistra viene riportato l'elenco dei comuni con almeno un pozzo con concentrazione di PFAS totali nelle acque sotterranee uguale o superiore a 100 ng/l. Il plume inquinato rappresentato con l'area arancione è invece ricostruito su un valore soglia di concentrazione di 500 ng/l di PFAS totali e deve considerarsi, come precisato, parziale e provvisorio.

L'area interessata dall'inquinamento dovuto ai PFAS (fonte: Arpa.veneto.it)

12. Conclusioni

L'origine della contaminazione è stata individuata da CNR-IRSA, comunicata al Ministero dell'ambiente e, successivamente, anche dall'ARPA negli scarichi dell'azienda chimica Miteni spa, posta nel comune di Trissino, la quale si è attivata con la realizzazione, in fasi successive nel tempo, nell'area sud dello stabilimento e nell'area all'interno dello stabilimento, di venti pozzi barriera, per una portata complessiva di progetto di circa 360 mc/h, in continuo emungimento, e trattamento solo di una parte delle acque con carboni attivi (circa 120 mc/h).

Per quanto riguarda gli scarichi nel collettore consortile A.Ri.C.A., che trasferisce nel canale Fratta - Gorzone, all'altezza di Cologna Veneta (VR), i reflui depurati di cinque depuratori (Trissino, Arzignano, Montecchio, Montebello Vicentino e Lonigo, per un totale circa 2.300.000 abitanti equivalenti), l'ARPA, già nel 2013, aveva appurato:

- 1) che l'incidenza della contaminazione esistente nel corso d'acqua anzidetto era dovuta alla rilevante presenza di sostanze perfluoro-alchiliche nello scarico industriale della ditta Miteni spa, allacciata all'impianto di depurazione di Trissino, che contribuisce per il 96,989 per cento all'apporto totale di PFAS scaricati nel Fratta-Gorzone;
- 2) che l'inquinamento delle acque era determinato dal fatto che gli impianti di depurazione in questione non sono sufficientemente in grado di abbattere questo tipo di sostanze, non essendo dotati di tecnologia adeguata, mentre la diminuzione della concentrazione allo scarico è dovuta esclusivamente all'effetto diluizione.

L'ARPA ha imposto alla società Miteni una serie di prescrizioni, volte a ridurre la presenza nel collettore A.Ri.C.A. delle sostanze perfluoroalchiliche, mediante una corretta e costante gestione dei sistemi di filtrazione.

Gli interventi hanno prodotto qualche miglioramento, considerato che vi è un *trend* in diminuzione di tali sostanze sia in concentrazione, sia in flusso di massa.

Peraltro, la presenza dei composti a 8 atomi di carbonio (PFOA e PFOS) è andata scemando nel tempo ed è stata sostituita dalla presenza di composti a 4 atomi (PFBA e PFBS), come emerge dalla relazione ARPA del mese di marzo 2015⁷⁰ e dalla successiva relazione di aggiornamento del 19

⁷⁰ Doc. 476/7

giugno 2016⁷¹, riguardante l'intero periodo di osservazione, a partire dal 25 giugno 2013 al 4 giugno 2016.

Comunque, la diminuzione di PFOA e PFOS non è dovuta solo all'efficacia dei sistemi di trattamento, dal momento che - come si è osservato - gli stessi non sono adeguati ad abbattere in modo completo tutti i PFAS presenti nei vari flussi, ma è stata principalmente determinata dal fatto che la Miteni non impiega più il PFOA e il PFOS nei propri processi produttivi, avendoli sostituiti con il PFBA e con il PFBS.

Tuttavia, quand'anche la Miteni completasse l'attività di barrieramento, attualmente in essere, al fine di renderla efficace, mediante la realizzazione di ulteriori pozzi per l'emungimento delle acque a valle dello stabilimento industriale e il trattamento delle acque emunte con carboni attivi e riuscisse a trattenere le acque inquinate, i problemi non sarebbero risolti, posto che - come si è rilevato - l'azienda Miteni è insediata in area di ricarica di falda, in presenza di un acquifero indifferenziato, sicché è altamente probabile che questa contaminazione, non ancora definita nella sua complessità, contribuisca all'inquinamento della falda acquifera a valle, tanto più che la presenza pluridecennale sul sito di queste tipologie di produzioni fa presagire una contaminazione di natura storica.

Infine, le verifiche effettuate dall'ARPA Veneto sulle acque utilizzate per il raffreddamento degli impianti della Miteni - che vengono tuttora scaricate direttamente nel torrente Poscola senza essere convogliate nello scarico aziendale, collettato al depuratore di Trissino - hanno riscontrato, nel corso delle analisi eseguite nel 2014, ancora alcuni valori fuori dai limiti fissati dalla regione nell'autorizzazione integrata ambientale rilasciata con decreto del 30 luglio 2014, n. 59, che, però, andranno ancora riverificati con i successivi controlli.

La situazione sulle acque di scarico nel torrente Poscola, dunque, appare migliorata, se si considera che i PFAS totali, riscontrati dall'ARPA Veneto, a seguito dei campionamenti effettuati l'anno precedente, in data 4 luglio 2013, nelle acque di scarico della Miteni nel pozzo A (che comunica direttamente con il torrente Poscola) erano di 28.320 ng/l, mentre i PFOA erano di 16.067 ng/l e i PFOS di 3.460 ng/l e che il complesso di tali sostanze, dai controlli recenti, risulta diminuito.

In ogni caso, si è comunque in presenza di concentrazioni di PFAS, che sono ancora notevolmente elevate.

⁷¹ Doc. 1543/3

Una situazione critica che, allo stato, sembra comunque destinata a rimanere invariata, dal momento che le acque di raffreddamento degli impianti della Miteni, contenenti le anzidette concentrazioni di sostanze perfluoroalchiliche, vengono tuttora sversate nel torrente Poscola, senza trattamenti efficaci, con conseguente diffusione a valle dei contaminanti ivi presenti.

In tal modo viene di fatto vanificata sia l'attività dei venti pozzi barriera, posizionati nell'area interna e a sud dello stabilimento, con il continuo emungimento delle acque e l'uso di carboni attivi, sia l'attività del depuratore di Trissino, in cui vengono convogliati gli scarichi aziendali.

Non v'è dubbio che il problema degli scarichi della Miteni deve essere affrontato in modo complessivo e non parziale, come avviene oggi.

Invero, sulla base degli accertamenti effettuati dall'ARPA, che hanno posto in evidenza il dato per cui il 97 per cento dell'apporto di PFAS scaricati nel Fratta - Gorzone proviene dagli scarichi della Miteni nella fognatura e quindi nel depuratore di Trissino (senza considerare gli altri scarichi inquinati da PFAS che la Miteni scarica nel torrente Poscola) - allo stato - risulta sufficientemente acclarato che proprio da questo sito giunge la quasi totalità dell'inquinamento dei PFAS nell'area del vicentino.

Pertanto appare necessario e urgente intervenire direttamente all'origine del problema, in via preventiva, depurando tutti gli scarichi della società e, dunque, non solo quelli che recapitano in corso d'acqua superficiale (torrente Poscola), già regolati nell'autorizzazione AIA (PFOS 30 ng/l, PFOA 500 ng/l, altri PFAS 500 ng/l), ma anche quelli che recapitano in fognatura e poi confluiscono al depuratore consortile di Trissino, gestito da Alto Vicentino Servizi Spa.

In particolare, dovrebbero essere installati idonei impianti di trattamento che abbattano efficacemente tutti i PFAS, non solo, quelli a 8 atomi di carbonio, ma anche quelli a 4 atomi di carbonio.

Naturalmente, per imporre alla Miteni l'installazione degli idonei impianti di trattamento, risulta necessario che la provincia di Vicenza, che ha sostituito la regione Veneto, fissi innanzitutto i limiti allo scarico - così come indicati dall'Istituto superiore di sanità - anche per gli scarichi in fognatura confluenti al depuratore consortile, che attualmente sono troppo elevati e consentono la veicolazione degli inquinanti attraverso lo scarico del depuratore e il canale gestito da A.Ri.C.A.

Inoltre, per completare gli interventi all'origine, deve essere potenziata la barriera della falda sotterranea presso la Miteni allo scopo di bloccare la propagazione sotterranea dell'inquinamento e trattare le acque estratte con idonei impianti di abbattimento, prima di scaricare le acque.

Dai fatti sopra esposti risulta:

- 1) che le acque che la Miteni scarica nel depuratore consortile e anche nel torrente Poscola contengono sostanze perfluoroalchiliche, con concentrazioni rilevanti di PFOA e di PFOS;
- 2) che tali sostanze appartengono alla classe dei composti organici alogenati, con la conseguenza che rientrano nell'elenco delle sostanze pericolose di cui al n. 15 (composti organici alogenati) della tabella 5 dell'allegato 5, parte terza, del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152;
- 3) che, per quanto sopra osservato sulla particolare natura dei terreni, le acque contaminate percolano nell'acqua di falda idropotabile;
- 4) che il principale veicolo dei PFAS è l'acqua, sia per uso potabile che per uso agricolo e zootecnico;
- 5) che la popolazione esposta assorbe le sostanze perfluoroalchiliche, che si accumulano nel sangue in concentrazioni molto più alte rispetto alla popolazione non esposta.

Così descritta la situazione in fatto, appare ben difficile non ritenere la sussistenza del reato di cui all'articolo 439 del codice penale (avvelenamento di acque destinate all'alimentazione, prima che siano attinte o distribuite per il consumo).

In realtà, alla luce della giurisprudenza sopra citata, l'avvelenamento delle acque di cui all'articolo 439 del codice penale sussiste quando le stesse sono potenzialmente idonee a produrre effetti tossico-nocivi per la salute, e non solo inquinate.

Afferma ancora la giurisprudenza ritiene che non deve trattarsi necessariamente di potenzialità letale, essendo sufficiente che il composto inquinante abbia la potenzialità di nuocere alla salute.⁷²

Tutto ciò precisato, non è possibile negare *tout court* - come sembra sostenere il procuratore della Repubblica di Vicenza - che le sostanze perfluoroalchiliche non abbiano la potenzialità di nuocere alla salute umana, posto che un dato risulta acclarato in modo abbastanza pacifico e, cioè, che i perfluoroalchilici sono sostanze che, accumulandosi nell'organismo umano, si comportano da interferenti endocrini (in particolare, nel metabolismo dei grassi, con sospetta azione estrogenica) e da sospetti cancerogeni, secondo lo studio del CNR sopra richiamato e la letteratura internazionale sopra citata.

⁷² Cfr. Sez. 1, Sentenza della Corte di cassazione n. 35456 del 26 settembre 2006

Queste conclusioni sono suffragate dalla relazione tecnica del professor Gianluca Maria Farinola,⁷³ al quale il presidente della Commissione di inchiesta, con nota in data 18 maggio 2016 (prot. n. 3950), ha conferito l'incarico di valutare le caratteristiche dei composti perfluoroalchilici e gli effetti sulla salute umana.

L'obiettivo della relazione è stato quello di abbracciare in una visione di insieme, seppure in maniera non esaustiva, il complesso quadro relativo alle conoscenze attuali sull'inquinamento da PFAS, con particolare riferimento all'inquinamento di corpi idrici per uso irriguo e per approvvigionamento di acqua potabile, focalizzandosi sul caso del rilevamento di inquinamento da PFAS nella regione Veneto.

Come si è detto, la relazione del professor Farinola ha cercato di compendiare in poche pagine, integrando lavori selezionati dalla letteratura scientifica e parte dei documenti acquisiti dalla Commissione, lo stato attuale delle conoscenze tecnico-scientifiche sulle fonti e la diffusione di questi inquinanti e sui loro effetti tossicologici.

Il quadro generale - quale emerge dalla analisi della letteratura scientifica e dei documenti acquisiti e delle audizioni effettuate dalla Commissione di inchiesta - è caratterizzato da un alto grado di frammentarietà e in alcuni casi di contraddittorietà delle conoscenze sugli effetti tossicologici di queste sostanze.

Ciò riguarda non solo le correlazioni causa-effetto tra l'esposizione all'inquinante (nella fattispecie, l'esposizione all'inquinante attraverso l'acqua potabile) e l'insorgenza di patologie, ma anche i termini quantitativi attraverso cui questa esposizione debba essere valutata.

E, tuttavia, i dati acquisiti pongono in evidenza possibili nessi di causalità tra l'esposizione a PFAS e vari tipi di patologie, tra cui principalmente alcuni tipi di tumore, disordini del sistema endocrino, problemi cardiovascolari e disturbi della fertilità.

I dati in letteratura non sono concordi né sull'elenco di queste patologie, né sui limiti quantitativi di esposizione con i quali l'insorgenza di queste patologie sarebbe correlata.

In molti casi gli studi epidemiologici si concludono affermando che, sebbene vi siano sospette correlazioni, non si possono trarre conclusioni causa-effetto certe e vi sono numerosi esempi in cui gli studi si contraddicono tra di loro, giungendo a conclusioni opposte.

⁷³ Doc. 1535/2 allegato 3 alla presente relazione

Complessivamente, il consulente nominato pone in evidenza che le ricerche e le indagini tossicologiche forniscono indicazioni sufficienti a suggerire la necessità di adottare misure di massima precauzione consistenti nel ridurre o annullare l'esposizione dei cittadini a questi inquinanti, anche in considerazione della loro spiccata tendenza ad accumularsi nell'ambiente e nell'organismo e dei lunghissimi tempi necessari per l'espulsione delle sostanze dall'organismo stesso, una volta accumulate.

I limiti di presenza di PFAS nelle acque sono stati definiti dalla normativa solo per alcuni di questi inquinanti, mentre per altri sono suggeriti dei parametri di qualità ambientali, calcolati sulla base delle attuali conoscenze.

In particolare, la regione Veneto ha definito i limiti di presenza nelle acque solo per alcuni di questi inquinanti, sulla base delle proposte dell'Istituto superiore di sanità.

Sebbene non sia noto, a causa della frammentarietà dei dati, se questi limiti siano efficaci, sottostimati o sovrastimati, essi rappresentano al momento un importante parametro quantitativo a cui far riferimento per l'adozione di quelle misure precauzionali che le informazioni oggi in nostro possesso ci impongono di adottare.

In conclusione, il professor Farinola sottolinea che la persistenza ambientale e la tendenza ad accumularsi nell'organismo per esposizioni prolungate, in combinazione con la sospetta associazione con l'insorgenza di alcune patologie, rappresentano i maggiori fattori di preoccupazione riguardo la presenza di queste sostanze nelle acque potabili e negli alimenti, anche in basse concentrazioni.

Come si è ampiamente sopra illustrato, si tratta di conclusioni suffragate:

- 1) da uno studio epidemiologico sull'uomo, denominato Progetto Salute C8 in Ohio, effettuato nel 2006, su campioni di sangue di circa 69.000 soggetti residenti nei pressi dell'industria DuPont's in West Virginia, che ha accertato la probabile associazione tra l'esposizione a PFOA ed effetti sanitari nella comunità, per quanto riguarda le seguenti patologie: ipercolesterolemia, colite ulcerosa, malattie tiroidee, tumori del testicolo e del rene, ipertensione indotta dalla gravidanza e preeclampsia;
- 2) da uno studio congiunto tra l'Istituto superiore di sanità e il Policlinico Umberto I di Roma, eseguito negli anni 2008 - 2009 su 38 donne in gravidanza che vivono a Roma, che ha misurato le concentrazioni di inquinanti persistenti nel sangue delle donne (la

misura è stata fatta nel siero del sangue) e le concentrazioni ritrovate nel siero del sangue dei neonati, accertandone il passaggio da madre a figlio;

- 3) da uno studio condotto dall'ENEA che, con riferimento al periodo 1980-2011, ha accertato nei comuni contaminati da PFAS, appartenenti alle province di Vicenza, Padova, Verona e Rovigo, per entrambi i sessi eccessi statisticamente significativi per la mortalità generale (9 per cento e un 10 per cento in più, rispettivamente, negli uomini e nelle donne), per le malattie cerebrovascolari (22 e 18 per cento in più, rispettivamente, negli uomini e nelle donne) e per l'infarto miocardico acuto (11 e 14 per cento in più, rispettivamente, per uomini e donne).

In tale quadro, altamente problematico sugli effetti tossici dei PFAS sulla salute umana, si inserisce una relazione del 23 novembre 2016 del professor Giovanni Costa dell'Università di Milano sul monitoraggio annuale effettuato - verosimilmente per conto della società Miteni - sui lavoratori della stessa società, a partire dall'anno 2000 fino all'anno 2016, nonché un estratto delle relazioni sull'attività di sorveglianza svolta dallo stesso professor Costa sui lavoratori della Miteni nell'ultimo quinquennio (2010-2015), con le relative conclusioni per ciascuna annualità⁷⁴, ma i cui dati di riferimento, cioè gli esami emato-chimici e urinari, sono stati coperti da omissis.

Come si è sopra osservato, si tratta, ad avviso della Commissione di inchiesta, di una grave carenza metodologica, posto che il monitoraggio dei lavoratori della Miteni ha un senso, non in relazione al rispetto di parametri astratti molto elevati, bensì in relazione alla verifica del loro effettivo stato di salute, dopo anni di assorbimento di sostanze perfluoroalchiliche, che come si è visto sono potenzialmente pericolose specie per lunghe esposizioni, nonché di lentissima espulsione dall'organismo umano.

Ciò è tanto più grave se si considerano, ad esempio, studi epidemiologici sull'uomo, e in particolare sugli operai esposti a composti perfluoroorganici, i quali non mostrano correlazioni con epatotossicità solo per concentrazioni di PFOS al di sotto di 6 microgrammi/l (pari a 6.000 nanogrammi/l).

Si tratta di una omissione che desta molte perplessità e qualche dubbio in più.

Tutto ciò precisato a proposito del probabile avvelenamento delle acque e delle sostanze alimentari, determinato dalle sostanze perfluoroalchiliche, deve essere tenuto ben presente che proseguendo, com'è pacifico, l'inquinamento ambientale, a dispetto dei pozzi e dei piezometri installati dalla

⁷⁴ Doc. 1610/2
91

Miteni, non v'è dubbio che, a partire dal 29 maggio 2015, con l'entrata in vigore della legge n. 68, è configurabile nei confronti della società il reato di omessa bonifica di cui all'articolo 452-*terdecies* del codice penale.

A ciò deve essere aggiunto l'ulteriore fatto che gli scarichi della Miteni, sia quelli che passano attraverso il depuratore consortile di Trissino e poi recapitano nel corso d'acqua Fratta - Gorzone, sia quelli che recapitano direttamente nel torrente Poscola, hanno deteriorato le acque superficiali, facendo superare il limite dello *standard* di qualità di 0,65 ng/l.

Si tratta quindi di una chiara causa-effetto di danno ambientale, per altro misurabile, poiché vi è un limite di riferimento di legge (previsto nel decreto legislativo 13 ottobre 2015, n.172) e, pertanto, appare configurabile, nella sua attualità, anche il reato di inquinamento ambientale di cui all'articolo 452-*bis* del codice penale.

Infine, deve essere posto in evidenza che la Miteni ha anche superato i limiti allo scarico nel torrente Poscola, imposti con l'autorizzazione integrata ambientale rilasciata dalla regione il 30 luglio 2014, in quanto gli accertamenti eseguiti da ARPA hanno appurato il superamento dei valori limiti del PFOA allo scarico in data 30 ottobre 2014, nonché in data 11 dicembre 2014.

L'ARPA dovrà effettuare nuove verifiche su tali scarichi anche nel 2016 e, nel caso in cui tali superamenti venissero oggi confermati dall'ARPA, si configurerebbe la violazione della norma contenuta nell'articolo 29 *quattordices*, commi 3 e 4, del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152 e successive modifiche intervenute (reato contravvenzionale).

Sul punto va ricordato che le prescrizioni dell'AIA sul rispetto dei limiti allo scarico da parte della Miteni sono operative a partire dal 30 luglio 2015, cioè a decorrere da un anno dalla data del decreto di autorizzazione AIA, emesso in data 30 luglio 2014.

La vicenda dell'inquinamento da PFAS è comunque ben lungi dall'essere conclusa.

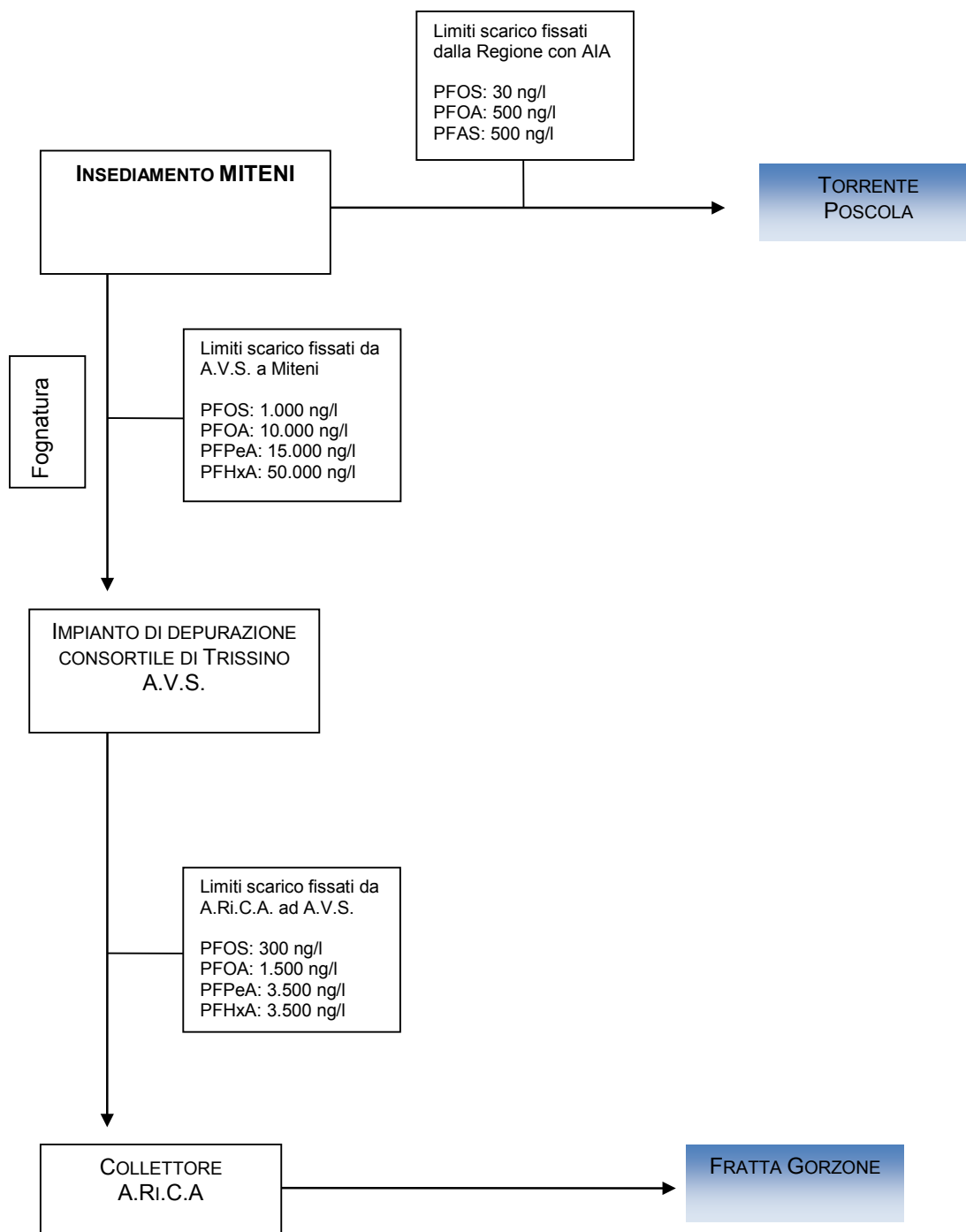
All'esito di questo *excursus* emerge evidente la grande confusione che regna nella gestione delle sostanze perfluoroalchiliche da parte della regione e del Ministero dell'ambiente, gestione che ha minato l'efficacia dei risultati.

Invero, i limiti dei vari PFAS fissati nelle varie matrici ambientali sono incompleti e si riferiscono a sostanze diverse da matrice a matrice.

La breve sintesi che segue chiarisce la situazione:

- scarichi della Miteni in corso d'acqua superficiale: fissati dalla Regione con l'autorizzazione AIA, su tutte le sostanze perfluoroalchiliche (PFOS 30 ng/l, PFOA 500 ng/l e altri PFAS 500 ng/l). Si tratta di limiti uguali a quelli fissati per le acque potabili;
- CSC nelle acque di falda: fissati dalla regione Veneto solo per il PFOA (500 ng/l);
- standard di qualità delle acque superficiali: fissati con il decreto legislativo 13 ottobre 2015, n.172, per il PFOS (0,65 ng/l) e per altre 5 sostanze, con i limiti indicati nella tabella riportata nel capitolo 2 della presente relazione;
- scarichi della Miteni in fognatura: stabiliti da Alto Vicentino Servizi Spa, gestore del depuratore di Trissino, che li ha fissati solo per un numero limitato di PFAS e, per di più, con valori altissimi, del tutto privi di efficacia;
- scarichi del depuratore di Trissino nel collettore A.Ri.C.A.: stabiliti da A.Ri.C.A., gestore del collettore, che li ha fissati con valori ancora molto alti, dapprima in 15.000 ng/l, per la somma PFOA + PFOS, e poi differenziati come segue PFPeA: 3.500 ng/l, PFHxA 3.500 ng/l, PFOA: 1.500 ng/l e PFOS: 300 ng/l, anch'essi privi di qualsiasi efficacia.

In particolare, per quanto riguarda gli scarichi, lo schema seguente illustra visivamente la situazione:



I limiti dello scarico Miteni in fognatura, recapitante nel depuratore Alto Vicentino Servizi Spa, sono rispettati, così come sono rispettati i limiti dello scarico Alto Vicentino Servizi Spa nel collettore A.Ri.C.A.

Tuttavia, tali limiti vengono rispettati dalla Miteni solo in ragione del fatto che per gli stessi è stata fissata una soglia elevata, molto al di sopra degli *standard* di qualità dei corsi d'acqua superficiali.

Sono altresì rispettati i limiti di versamento nel torrente Poscola delle acque utilizzate dalla Miteni per la lavorazione e per il successivo raffreddamento degli impianti, considerato che tali acque dopo il prelievo dalla falda vengono trattate con i carboni attivi.

Viceversa, non sono rispettati i limiti della CSC della falda acquifera sotterranea, fissati dalla regione Veneto solo per il PFOA, posto che i valori riscontrati sono pari a circa sei volte il valore massimo di 500 ng/l, fissato dalla regione, mentre valori molto elevati presentano i PFOS e la somma dei PFAS, per molte migliaia di nanogrammi per litro, come illustrato nello schema contenuto nella “Tabella 3 - Risultati analitici piezometro MW18”, riportato nel capitolo numero 6 di questa relazione.

Naturalmente, il grave inquinamento della falda determina anche l'inquinamento delle acque superficiali e anche dello stesso torrente Poscola, a causa del prelievo delle acque di falda per l'utilizzo come acque di processo e di raffreddamento, poi scaricate nel torrente, cui consegue in modo quasi circolare il successivo ritorno in falda di tali acque, da cui viene prelevata anche l'acqua potabile, anch'essa naturalmente gravemente inquinata.

Sul punto, è sufficiente un semplice raffronto tra i valori-limite sopra riportati per le acque potabili, prima del loro trattamento con i carboni attivi, e quelli proposti in ambito US-EPA (400 ng/l per PFOA e 200 ng/l per PFOS) o tedeschi (100 ng/l, per la somma dei perfluorurati per una esposizione decennale), per rendersi conto della gravità dell'inquinamento tuttora in essere nell'area compresa nelle province di Vicenza, Verona e Padova.

Infine, la regione Veneto, in data 19 dicembre 2016, ha inviato due relazioni, accompagnate dai relativi allegati di riferimento.

La prima relazione riguarda la “contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFASs) nelle acque ad uso umano” (documento di sintesi aggiornato al 31 agosto 2016).

In tale documento di sintesi vengono riportati gli esiti dell'aggiornamento relativo alle concentrazioni delle sostanze perfluoroalchiliche nelle acque destinate al consumo umano, sia della

rete acquedottistica, sia della rete dei pozzi privati, anche con riferimento alle acque di pozzo privato per abbeverata.

I risultati delle elaborazioni statistiche sulle analisi effettuate, nel periodo da luglio 2013 a giugno 2016, pongono in evidenza che, per quanto riguarda i pozzi pubblici, la presenza delle sostanze PFOA e PFOS risulta essere ampiamente contenuta entro i livelli dei limiti di *performance* fissati dall'ISS, mentre per gli altri PFAS, pur essendo i valori di concentrazione rilevati entro i limiti di *performance*, gli stessi si avvicinano ai livelli limite fissati dall'ISS.

Viceversa, per quanto riguarda i prelievi effettuati nei pozzi privati - sempre nel periodo compreso tra il mese di luglio 2013 e il mese di giugno 2016 - eseguiti su 1.064 pozzi per un totale di 1.228 campionamenti, le elaborazioni analitiche pongono in evidenza il superamento dei livelli limite di *performance* fissati dall'ISS nel 17 per cento dei campioni per il PFOA, nel 9 per cento dei campioni per il PFOS e nel 23 per cento dei campioni per gli altri PFAS.

In conclusione, sul punto, le analisi eseguite costituiscono la conferma che il fenomeno di inquinamento delle acque potabili da PFAS è ancora in atto e che le misure poste in essere per il suo contenimento non sono completamente efficaci.

La seconda relazione, come si è detto, riguarda “l'aggiornamento a dicembre 2015 del monitoraggio delle sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) nelle acque superficiali del Veneto” (periodo di riferimento luglio 2013 - dicembre 2015).

Questo secondo documento, elaborato dall'ARPAV, si riferisce ai dati raccolti dal monitoraggio effettuato, a partire dal mese di agosto 2013 fino al mese di dicembre 2015, su 128 siti di corsi d'acqua superficiali dei bacini idrografici del Veneto, potenzialmente interessati dai fenomeni di contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche.

Ebbene, per quanto riguarda i fiumi, dal confronto tra i valori degli SQA previsti dal decreto legislativo n. 172 del 13 ottobre 2015, emerge che si riscontrano diversi superamenti dei limiti degli *standard* di qualità delle acque (SQA) per il PFOS e il PFOA, mentre per gli altri PFAS le singole concentrazioni risultano sempre inferiori al valore medio annuo previsto.

In particolare, dai controlli effettuati risulta che i bacini idrografici maggiormente interessati dal fenomeno sono i bacini Fratta Gorzone e Bacchiglione e che le criticità riscontrate riguardano

principalmente lo scarico A.Ri.C.A. e gli scambi “naturali” tra acque superficiali e acque sotterranee attraverso complessi meccanismi di contaminazione, mentre le altre acque superficiali (principalmente, Piave, Livenza, Tagliamento e Brenta, prima della confluenza del Gorzone e del Bacchiglione) sinora risultano immuni da PFAS, pur se nel bacino scolante nella laguna di Venezia sono state rinvenute presenze occasionali di tale composto.

In conclusione, su questo secondo punto, va rilevato che anche il monitoraggio dei corsi d’acqua dei bacini idrografici del Veneto conferma che la fonte dell’inquinamento parte dall’area occupata dalla società Miteni e che il barrieramento in atto dentro e fuori lo stabilimento industriale è tuttora insufficiente a bloccare la diffusione delle sostanze perfluoroalchiliche nei bacini idrografici direttamente collegati alla fonte della contaminazione.

Infine - come si è visto - la regione Veneto ha promosso una vasta azione sanitaria, per verificare la presenza e gli eventuali effetti su persone e alimenti dei PFAS, mediante l’approvazione di due importanti piani di intervento, un “piano di sorveglianza sulla popolazione esposta alle sostanze perfluoroalchiliche” e un “piano di campionamento per il monitoraggio degli alimenti in relazione alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in alcuni ambiti della regione del Veneto”.

I due piani di intervento prevedono lo *screening* sanitario su una popolazione di 85.000 persone residenti nella cosiddetta “area rossa”, quale individuata per gli elevati livelli di contaminazione delle acque superficiali e sotterranee ed estesa in ventuno comuni, compresi nelle province di Vicenza, Verona e Padova, nonché il monitoraggio degli alimenti, allo scopo di verificare il livello di contaminazione da PFAS nelle principali produzioni agro-zootecniche dell’area a rischio e individuare i livelli di sicurezza di tali contaminanti negli alimenti.

I risultati ottenuti dovranno essere correlati ai dati sui consumi alimentari della popolazione della zona a rischio, al fine di stimare l’esposizione per via alimentare, ivi compresa la fonte idrica. In questa sede non può essere sottaciuta la circostanza che nel percolato di molte discariche del veneto sono presenti sostanze perfluoroalchiliche in concentrazioni rilevanti, mediamente nella

misura di circa 30 mila ng/l. Si tratta di un dato che emerge dalle note dell'ARPA di Verona del mese di ottobre 2016.⁷⁵

Dalle note l'ARPA risulta altresì che il percolato così inquinato non viene trattato solo presso impianti insistenti nella regione Veneto, ma viene esportato presso impianti di altre regioni.

Infine, la Commissione di inchiesta ha acquisito la nota della regione Veneto, a firma del direttore generale Domenico Mantoan del 17 novembre 2016, protocollo n. 450099⁷⁶, indirizzata all'assessore regionale alla sanità, all'assessore regionale all'ambiente, all'assessore regionale all'agricoltura e al presidente della provincia di Vicenza.

Si tratta di un documento che, in modo del tutto autonomo, di fatto, richiama in sintesi tutte le criticità già descritte in modo dettagliato nella presente relazione della Commissione di inchiesta e nelle cui conclusioni richiede ai “suddetti soggetti istituzionalmente competenti la tempestiva adozione di tutti i provvedimenti urgenti a tutela della salute della popolazione volti alla rimozione della fonte di contaminazione ivi comprese le opportune variazioni degli strumenti pianificatori di competenza”.

Ciò conferma, ancora una volta, quanto emerge con la presente relazione.

⁷⁵ Doc 1677/5

⁷⁶ Doc. 1677/3

ENEA**(All. 1)**

Tabella 1 - Decessi, tassi standardizzati diretti di mortalità (T.S.D.) e relativi errori standard (E.S.) nei comuni con contaminazione da PFAS e in quelli non contaminati e rischi relativi (RR) con intervalli di confidenza (I.C. 95%) nel periodo 1980-2011. In grassetto gli incrementi di rischio statisticamente significativi.

MASCHI

Causa	Superamento PFAS			Assenza PFAS			RR	I.C.95%	
	Decessi	T.S.D.	E.S.	Decessi	T.S.D.	E.S.			
MORTALITA' GENERALE	19839	1126,39	8,02	79142	1029,35	3,67	1,09	1,08	1,11
TUMORE FEGATO E DOTTI	213	12,03	0,83	1167	15,04	0,44	0,80	0,69	0,93
TUMORE RENE	145	8,14	0,68	647	8,27	0,33	0,98	0,82	1,18
TUMORE VESCICA	213	12,28	0,84	901	11,95	0,40	1,03	0,88	1,19
TUMORE PANCREAS	325	18,49	1,03	1425	18,49	0,49	1,00	0,89	1,13
LEUCEMIE	193	10,76	0,78	789	10,12	0,36	1,06	0,91	1,25
LINFOMI NON HODGKIN	144	8,16	0,68	622	8,00	0,32	1,02	0,85	1,22
MIELOMA MULTIPLO	60	3,45	0,45	285	3,74	0,22	0,92	0,70	1,22
DIABETE	286	16,38	0,97	1097	14,44	0,44	1,13	1,00	1,29
TUMORE MAMMELLA	3	0,16	0,09	17	0,22	0,05	0,73	0,21	2,50
TUMORE PROSTATA	380	22,23	1,14	1767	23,92	0,57	0,93	0,83	1,04
TUMORE TESTICOLO	8	0,44	0,16	22	0,27	0,06	0,67	0,74	3,75
MALATTIE CEREBRO_VASCOLARI	1778	103,03	2,45	6333	84,72	1,07	1,22	1,15	1,28
INFARTO MIOCARDICO ACUTO	1820	103,30	2,43	7129	92,66	1,10	1,11	1,06	1,17
MALATTIA DI ALZHEIMER	73	4,28	0,50	281	3,83	0,23	1,12	0,86	1,44
MORBO DI PARKINSON	74	4,35	0,51	315	4,29	0,24	1,01	0,79	1,31

FEMMINE

Causa	Superamento PFAS			Assenza PFAS			RR	I.C.95%	
	Decessi	T.S.D.	E.S.	Decessi	T.S.D.	E.S.			
MORTALITA' GENERALE	19142	962,91	6,96	73814	873,83	3,22	1,10	1,08	1,12
TUMORE FEGATO E DOTTI	85	4,31	0,47	404	4,81	0,24	0,90	0,71	1,13
TUMORE RENE	92	4,67	0,49	327	3,88	0,22	1,20	0,95	1,52
TUMORE VESCICA	53	2,68	0,37	206	2,47	0,17	1,09	0,80	1,47
TUMORE PANCREAS	270	13,72	0,84	1268	15,11	0,42	0,91	0,80	1,04
LEUCEMIE	159	8,00	0,64	642	7,46	0,30	1,07	0,90	1,28
LINFOMI NON HODGKIN	104	5,28	0,52	548	6,47	0,28	0,82	0,66	1,01
MIELOMA MULTIPLO	73	3,73	0,44	367	4,37	0,23	0,85	0,66	1,10
DIABETE	581	29,27	1,22	1865	22,25	0,52	1,32	1,20	1,44
TUMORE MAMMELLA	752	38,01	1,39	3209	37,30	0,66	1,02	0,94	1,10
TUMORE OVAIO	190	9,68	0,70	803	9,39	0,33	1,03	0,88	1,21
MALATTIE CEREBRO_VASCOLARI	2573	129,51	2,55	9205	109,62	1,14	1,18	1,13	1,23
INFARTO MIOCARDICO ACUTO	1360	68,61	1,86	5057	60,31	0,85	1,14	1,07	1,21
MALATTIA DI ALZHEIMER	145	7,30	0,61	498	5,95	0,27	1,23	1,02	1,48
MORBO DI PARKINSON	97	4,88	0,50	350	4,19	0,22	1,16	0,93	1,46



Tabella 2 - Decessi, tassi standardizzati diretti di mortalità (T.S.D.) e relativi errori standard (E.S.) nei comuni con contaminazione da PFOS e in quelli non contaminati e rischi relativi (RR) con intervalli di confidenza (I.C. 95%) nel periodo 1980-2011. In grassetto gli incrementi di rischio statisticamente significativi.

MASCHI

Causa	Superamento PFOS			Assenza PFAS			RR	I.C.95%	
	Decessi	T.S.D.	E.S.	Decessi	T.S.D.	E.S.			
MORTALITÀ GENERALE	18224	1132,55	8,41	79142	1029,35	3,67	1,10	1,08	1,12
TUMORE FEGATO E DOTTI	197	12,17	0,87	1167	15,04	0,44	0,91	0,70	0,94
TUMORE RENE	135	8,29	0,72	647	8,27	0,33	1,00	0,83	1,21
TUMORE VESCICA	197	12,44	0,89	901	11,95	0,40	1,04	0,89	1,22
TUMORE PANCREAS	292	18,16	1,07	1425	18,49	0,49	0,98	0,87	1,11
LEUCEMIE	179	10,90	0,82	789	10,12	0,36	1,08	0,91	1,27
LINFOMI NON HODGKIN	128	7,92	0,70	622	8,00	0,32	0,99	0,82	1,20
MIELOMA MULTIPLO	54	3,38	0,46	285	3,74	0,22	0,90	0,68	1,21
DIABETE	263	16,49	1,02	1097	14,44	0,44	1,14	1,00	1,31
TUMORE MAMMELLA	3	0,17	0,10	17	0,22	0,05	0,80	0,23	2,74
TUMORE PROSTATA	344	22,05	1,19	1767	23,92	0,57	0,92	0,82	1,03
TUMORE TESTICOLO	7	0,42	0,16	22	0,27	0,06	1,58	0,67	3,72
MALATTIE CEREBRO_VASCOLARI	1625	103,16	2,56	6333	84,72	1,07	1,24	1,15	1,29
INFARTO MIOCARDICO ACUTO	1655	102,77	2,53	7129	92,66	1,10	1,11	1,05	1,17
MALATTIA DI ALZHEIMER	68	4,37	0,53	281	3,83	0,23	1,14	0,87	1,49
MORBO DI PARKINSON	70	4,50	0,54	315	4,29	0,24	1,05	0,81	1,36

FEMMINE

Causa	Superamento PFOS			Assenza PFAS			RR	I.C.95%	
	Decessi	T.S.D.	E.S.	Decessi	T.S.D.	E.S.			
MORTALITÀ GENERALE	17765	971,55	7,29	73814	873,83	3,22	1,11	1,09	1,13
TUMORE FEGATO E DOTTI	80	4,42	0,49	404	4,81	0,24	0,92	0,72	1,17
TUMORE RENE	90	4,97	0,52	327	3,88	0,22	1,28	1,01	1,62
TUMORE VESCICA	49	2,68	0,38	206	2,47	0,17	1,09	0,80	1,49
TUMORE PANCREAS	245	13,52	0,86	1268	15,11	0,42	0,89	0,78	1,03
LEUCEMIE	146	7,99	0,66	642	7,46	0,30	1,07	0,89	1,28
LINFOMI NON HODGKIN	97	5,35	0,54	548	6,47	0,28	0,83	0,67	1,03
MIELOMA MULTIPLO	65	3,61	0,45	367	4,37	0,23	0,83	0,63	1,08
DIABETE	542	29,69	1,28	1865	22,25	0,52	1,33	1,21	1,47
TUMORE MAMMELLA	681	37,46	1,44	3209	37,30	0,66	1,00	0,92	1,09
TUMORE OVAIO	177	9,81	0,74	803	9,39	0,33	1,04	0,89	1,23
MALATTIE CEREBRO_VASCOLARI	2398	131,24	2,68	9205	109,62	1,14	1,20	1,14	1,25
INFARTO MIOCARDICO ACUTO	1220	66,91	1,92	5057	60,31	0,85	1,11	1,04	1,18
MALATTIA DI ALZHEIMER	137	7,49	0,64	498	5,95	0,27	1,26	1,04	1,52
MORBO DI PARKINSON	92	5,02	0,52	350	4,19	0,22	1,20	0,95	1,51

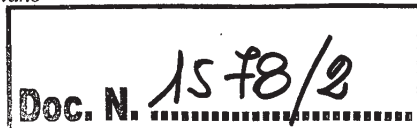
Doc. 1578/2

Prof. Giovanni Costa

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano



Milano, 23.11.2016

Ill.mo Signor

On. Dr. Alessandro Bratti

Presidente

Commissione parlamentare d'inchiesta sulle attività illecite connesse al ciclo dei rifiuti e su illeciti ambientali ad essi correlati

Camera dei Deputati

Roma

Egregio Onorevole,

in relazione alla sua cortese richiesta del 13.11 u.s. Le invio la relazione sul monitoraggio biologico di PFOA e PFOS effettuata nell'anno 2016 e il confronto con gli anni precedenti, che ho appena finito di predisporre nell'ambito delle relazione annuale concernente le attività di sorveglianza sanitaria ai sensi del D.Lgs. 81/2008.

Nella speranza di aver soddisfatto le sue attese, resto comunque a disposizione per ogni eventuale informazione e/o chiarimento.

Cordiali saluti

Prof. Giovanni Costa

Prof. Giovanni Costa

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano

MONITORAGGIO BIOLOGICO RELATIVO ALL'ESPOSIZIONE AD ACIDO PERFLUROOTTANOICO (PFOA)

In base al programma di monitoraggio biologico annuale, 128 lavoratori sono stati sottoposti a controllo nel Marzo-Aprile 2016. Essi costituiscono tutti i dipendenti attualmente in attività presso lo stabilimento di Trissino, in particolare:

- 12 lavoratori tuttora presenti nel reparto di produzione Perfluorurati (Esposti);
- 14 lavoratori che precedentemente hanno lavorato in tale reparto e trasferiti nel corso degli anni in altri reparti per esigenze produttive (Ex-Esposti);
- 81 operatori degli altri reparti o servizi (Fluoroaromatici, Benzotrifluoruri, Impianto Pilota, Manutenzione, Laboratori, Ingegneria, HSE, Magazzini) con possibile precedente contatto nelle zone di produzione di PFOA;
- 21 lavoratori operanti negli Uffici.

La Tabella 1 presenta il quadro di sintesi dei controlli effettuati dal 2000 ad oggi.

Tabella 1: Lavoratori controllati per PFOA (e PFOS) nel sangue dal 2000 ad oggi.

Anno-mese	Esposti	Ex-Esposti	Altri reparti	Uffici	Totale
2000-04	22	5		5	32
2001-05	26	12		10	48
2001-12	22				22
2002-06	31	14			45
2003-09	26	16		1	43
2004-09	29	6			35
2006-05	38	13		6	57
2007-05	38	10			48
2008-05	35	6		3	44
2009-05	36	4	14	2	56
2010-03	32	4	32		68
2011-03	30	8	29	1	68
2012-03	23	10	39	1	73
2013/03	23	5	49	1	78
2014/03	11	1	68	2	82
2015/03	13	6	65	1	85
2016/03	12	14	81	21	128

Prof. Giovanni Costa

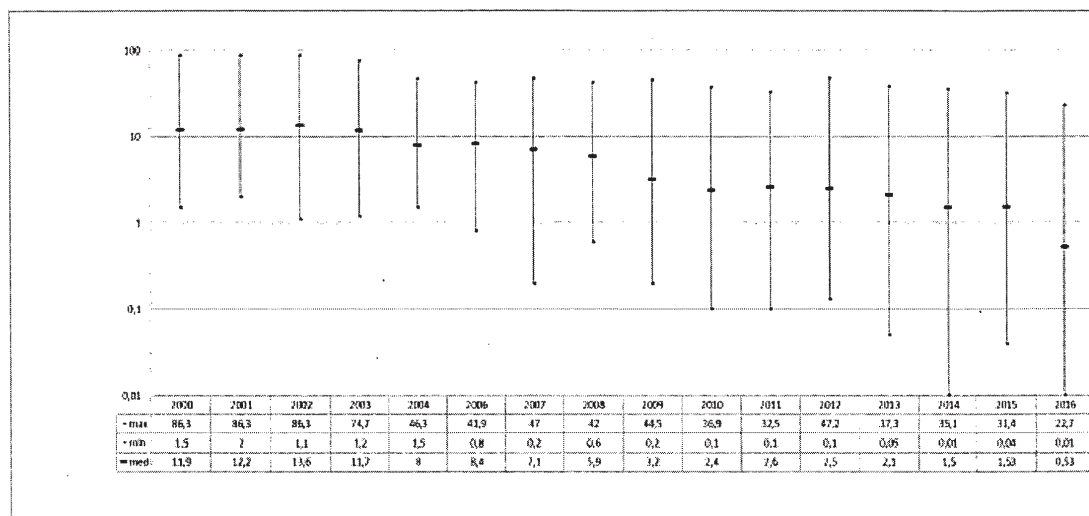
Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano

L'andamento globale dei livelli di PFOA registrati nel corso degli anni (dal 2000 al 2016) è riportato nella Figura 1, dove i dati sono espressi in termini di valori massimo, mediano e minimo della distribuzione dei valori registrati in ciascun anno.

Figura 1: Valore massimo, mediano e minimo di PFOA serico (mg/l or ppm) registrati nei lavoratori nel corso degli anni.



L'andamento generale indica un lento, ma progressivo decremento dei valori mediano di PFOA nel corso degli anni, ma che non è correttamente interpretabile immediatamente dato che i lavoratori esaminati nei diversi anni non sono sempre gli stessi, in relazione alla loro presenza o meno nei reparti di produzione nel corso del periodo (nuovi ingressi, dimessi, trasferiti) e poiché, più recentemente, sono stati inclusi nel monitoraggio sempre più operatori non direttamente addetti alla produzione del PFOA, ma con probabile esposizione occasionale o temporanea (manutentori, tecnici dei laboratori analisi e ricerche, lavoratori degli altri reparti) fino all'inclusione, nell'ultimo controllo di quest'anno, di tutti i lavoratori dell'azienda, compresi gli impiegati.

Prof. Giovanni Costa*Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano**Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico**Via S. Barnaba 8, 20122 Milano*

La Tabella 2 e la Figura 2 riportano i livelli di PFOA nel siero, espressi in $\mu\text{g/l}$ o ppb , riscontrati nel 2016 in relazione al reparto di afferenza attuale.

Come si può rilevare i livelli serici più bassi si osservano nel gruppo degli Uffici (UFF), che presentano livelli riscontrabili anche nella popolazione generale, mentre i livelli più elevati si riscontrano nei lavoratori che sono stati esposti al PFOA nel reparto Perfluorurati nel corso degli anni (PF e ex-PF).

Essi presentano livelli medi superiori di 56 e 70 volte rispetto ai soggetti impiegati negli uffici, risentendo ovviamente dell'elevata esposizione (e relativo assorbimento) avvenuta negli anni passati (documentata anche dai valori massimi registrati) e ora in corso di progressiva, ma lenta eliminazione (vedi tabelle 3-8) in relazione alla lunga emivita biologica della sostanza.

Livelli medi abbastanza elevati (11-15 volte superiori rispetto agli impiegati) si registrano anche negli addetti alla manutenzione (MTZ), al laboratorio di controllo qualità (LCQ) e nei responsabili tecnici di turno (RTdT), evidenziando un loro assorbimento in relazione a pregressa frequentazione periodica al reparto di produzione o a manipolazione della sostanza.

Livelli medi leggermente inferiori si registrano in altri reparti, quali Fluoroaromatici (FA) e Impianto Pilota (PIL) e Magazzino (MG), in relazione alla presenza di alcuni soggetti che hanno transitato per brevi periodi nel reparto PF.

Livelli medi decisamente inferiori si osservano nei settori Ingegneria (ING), Ricerche e Sviluppo (RISV) e nel reparto Benzotrifluoruri (BTF), indicando un'esposizione sporadica o occasionale.

Tabella 2: Livelli di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nel siero riscontrati nel 2016 in relazione al reparto attuale

Reparto	No	media	ds	mediana	max	min
Ex-PF	14	5623,0	5842,5	3644,7	22731,0	1060,3
PF	12	4543,6	2477,5	4431,8	9198,1	1435,7
MTZ	15	1189,9	672,6	1087,7	2568,3	250,4
LCQ	8	948,3	748,3	761,3	2446,2	163,6
RTdT	6	909,8	443,4	868,5	1602,8	414,3
FA	8	751,9	423,0	612,1	1609,9	289,6
PIL	6	542,3	347,3	521,1	1088,1	124,2
MAG	4	471,4	278,3	458,0	763,7	206,1
HSE-ING	6	403,9	538,0	120,0	1307,0	14,5
RISV	8	323,8	605,2	108,4	1802,9	0,01
BTF	19	201,1	165,3	140,9	662,5	33,4
UFF	21	80,8	139,6	9,7	531,9	25,86
Totale	128	1475,73	2797,39	534,03	22731,04	0,01

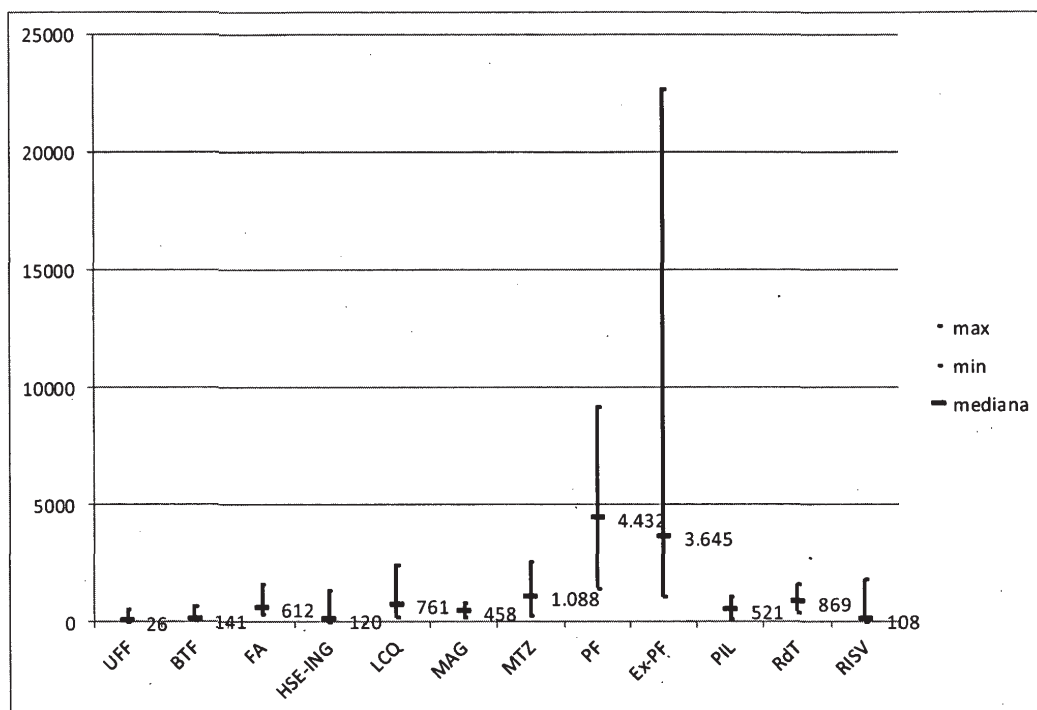
Prof. Giovanni Costa

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano

Figura 2: Valore massimo, mediano e minimo di PFOA serico ($\mu\text{g/l}$ o ppb) registrati nei lavoratori dei diversi reparti nel 2016.



Pertanto, al fine di avere un appropriato confronto tra gli anni, si sono presi in considerazione i lavoratori che hanno avuto due o più controlli nel corso del periodo di osservazione in modo da mettere a confronto gli stessi soggetti nei diversi anni.

Vengono quindi presentati i valori (medio, mediano, massimo e minimo) rilevati negli stessi soggetti nei vari anni di osservazione, partendo dagli ultimi due anni fino a risalire al confronto tra il primo anno di registrazione (2000) e il presente controllo.

Prof. Giovanni Costa

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano

Confrontando i 79 lavoratori esposti che hanno effettuato l'analisi del PFOA serico negli ultimi 2 anni (Tabella 3), 3 anni (tabella 4) e 5 anni (Tabella 5), si nota un netto decremento sia dei valori medio e mediano di gruppo sia del valore massimo.

Tabella 3: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 79 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico sia nel 2015 e nel 2016.

	2015	2016	Diff 2015-2016
No.	79	79	
Media	2798,3	2248,3	-19,7%
Deviazione Standard	4348,5	3330,9	
Max	31447	22731	-27,8%
Min	40	34	
Mediana	1530	1088	-28,9%

Tabella 4: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 77 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi 3 anni.

	2014	2015	2016	Diff 2014-2016
No.	77	77	77	
Media	3158,3	2854,0	2292,4	-27,4%
Dev. St.	5113,6	4390,1	3361,9	
Max	35052	31447	22731	-35,2%
Min	79	64	61,5	
Mediana	1535	1534	1108	-27,8%

Tabella 5: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 62 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi 5 anni

	2012	2013	2014	2015	2016	Diff 2012-2016
No.	62	62	62	62	62	
Media	5215	4535	3790	3411	2738	-47,5%
Dev. St.	7515	6221	5515	4725	3605	
Max	47157	37351	35052	31447	22731	-51,8%
Min	1570	135	101	109	91	
Mediana	2562	2515	2108	1875	1490	-41,9%

Prof. Giovanni Costa*Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano**Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico**Via S. Barnaba 8, 20122 Milano*

Osservando poi l'andamento nei 34 soggetti che hanno fatto tutti i controlli negli ultimi 10 anni, si riconferma il notevole decremento generale nel medio-lungo periodo, sia nel valore medio, pari al 59,7%, che di quello massimo (-51,7%) (Tabella 6).

Tutto ciò è confermato anche considerando i 23 soggetti che hanno fatto tutti i controlli negli ultimi 15 anni, che riconfermano il notevole decremento generale nel medio-lungo periodo, sia nel valore medio, pari al 67,1%, che di quello massimo (-76,8%), così come nel valore mediano (-48,9%) (Tabella 7).

Lo stesso emerge considerando i 15 soggetti esposti che hanno fatto tutti i controlli a partire dall'anno 2000 (Tabella 8), anno in cui è iniziato il monitoraggio biologico annuale della sostanza.

Tabella 6: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 34 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi

	2007	2009	2012	2014	2016	Diff 2007-2016
No.	34	34	34	34	34	
Media	10141	9339	7965	5758	4088	-59,7%
Dev. St.	11893	10726	9166	6803	4392	
Max	47030	44508	47157	35052	22731	-51,7%
Min	196	480	520	344	289	
Mediana	3680	5185	5926	4010	3131	-15,0%

Tabella 7: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 23 lavoratori che hanno effettuato il monitoraggio biologico negli ultimi 15 anni

	2003	2007	2010	2013	2016	Diff 2003-2016
No.	23	23	23	23	23	
Media	11860	11.205	7099	6482	3908	-67,1%
Dev. St.	12888	11173	6977	5199	3059	
Max	50800	41656	29596	23717	13326	-76,8%
Min	483	1035	884	812	553	
Mediana	6250	6882	4458	5404	3194	-48,9%

Tabella 8: Livelli serici di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nei 15 lavoratori sottoposti a monitoraggio biologico in tutti gli anni dal 2000 al 2016.

	2000	2003	2007	2010	2013	2016	Diff 2000-2016
No.	15	15	15	15	15	15	
Media	13960	15713	13313	7560	6832	3881	-72,2%
Dev. St.	11900	14429	11970	7421	5592	3047	
Max	37947	50800	41656	29596	23717	13326	-64,9%
Min	1542	1890	1759	884	812	553	
Mediana	11922	12300	9697	4533	5835	3221	-73,0%

Prof. Giovanni Costa*Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano**Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico**Via S. Barnaba 8, 20122 Milano*

In conclusione, i dati registrati nel 2016 confermano il generale, progressivo e costante calo dei livelli serici di PFOA nel corso degli ultimi anni.

Tutto ciò è ovvio negli ultimi 4 anni in relazione alla dismissione dell'attività produttiva del PFOA, ma i livelli ematici sono andati progressivamente calando anche nel corso degli anni in cui la produzione di PFOA era in corso (fino al 2011), evidenziando l'efficacia delle misure preventive e protettive messe in atto dal momento in cui si è potuto constatare l'accumulo della sostanza nell'organismo.

Occorre inoltre considerare che, oltre che dalla lunga emivita biologica della sostanza, l'andamento è notevolmente influenzato anche dai diversi livelli di esposizione/assorbimento avvenuti nel corso del periodo, oltre che dai diversi momenti di ingresso dei vari soggetti nella coorte in osservazione.

MONITORAGGIO BIOLOGICO RELATIVO ALL'ESPOSIZIONE A PERFLUOROTTANSOLFONILFLUORURO (PFOS)

Contestualmente al PFOA è stato negli anni dosato anche il PFOS, essendo stato oggetto di produzione fino al 2011, seppure per quantità e tempi molto più limitati rispetto al PFOA. I risultati relativi al monitoraggio biologico del PFOS sono riportati nella Tabella 9, che sintetizza i dati anche degli anni precedenti.

Pur se i confronti tra gli anni non sono strettamente comparabili (per il diverso numero di soggetti esaminati) tuttavia, in media, i livelli serici di PFOS sono risultati sempre molto bassi, circa 100 volte inferiori rispetto a quelli del PFOA, essendo dell'ordine di poche decine di ppb. Anche in questo caso tutti i parametri (media, minimo, massimo, mediana) sono progressivamente diminuiti nel corso degli anni.

Il valore medio mostra una diminuzione del 94.2 % rispetto al 2000, come pure il valore massimo (-87,2%) e quello mediano (-93.4%).

Infine la tabella 10 riporta i risultati in relazione ai diversi reparti, rilevando valori leggermente superiori negli addetti ai reparti di produzione (FA, PF, RTtD ed ex-PF) rispetto ai servizi (MAG, MTZ, LCQ) e agli addetti agli uffici.

Tabella 9: Livelli serici di PFOS in tutti i lavoratori esposti esaminati negli ultimi 17 anni (µg/l o ppb).

	2000	2001	2002	2003	2004	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
No. Lav	21	28	34	31	28	36	42	40	53	68	67	74	79	86	86	126
Media	819	663	555	431	451	465	289	215	141	111	91	96	89	75	64	48
DS	875	715	691	423	432	445	354	187	166	107	136	91	96	75	72	55
Min	7	465	76	55	87	75	17	25	18	16	1	14	9	4	4	4
Max	3386	3096	3280	1550	1593	1971	1777	794	1075	663	978	438	508	464	521	433
Mediana	57	434	309	261	326	349	203	168	92	81	60	72	64	7	47	35

Prof. Giovanni Costa

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università di Milano

Dipartimento di Medicina Preventiva, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Via S. Barnaba 8, 20122 Milano

Tabella 10: Livelli di PFOA ($\mu\text{g/l}$ o ppb) nel siero rilevati nel 2016 in relazione al reparto attuale

Reparto	No	mediana	max	min	media	ds
FA	8	77,6	269,9	25,5	117,9	91,4
PF	12	58,6	103,8	13,0	58,4	26,9
RTdT	6	54,9	91,9	39,6	59,0	18,3
Ex-PF	14	52,2	154,4	22,8	60,4	39,6
PIL	6	47,9	154,5	18,5	59,0	48,8
MTZ	15	42,3	432,6	12,9	67,4	102,5
LCQ	8	34,2	76,7	9,8	36,8	25,3
RISV	8	33,3	153,6	6,0	52,2	56,0
MAG	4	26,0	141,3	11,2	51,1	61,6
BTF	19	20,2	57,6	3,9	22,5	13,1
HSE-ING	6	< l.d.				
UFF	21	10,3	49,6	6,8	16,4	12,3

Note informative tecniche

La determinazione di PFOA e PFOS è stata fatta inizialmente (anni 2000, 2001, 2002 e 2003) presso il laboratorio di analisi Tandem Labs, Salt Lake City (USA), unico laboratorio che in quegli anni effettuava tali determinazioni per altre aziende produttrici (3M e Dupont).

Dal 2004 in poi le determinazioni sono sempre state effettuate presso il Laboratorio di analisi Medizinisches Labor Bremen, Bremen (D), scelto per la sua affidabilità tecnica a seguito di un confronto interlaboratoriale nell'ambito del progetto europeo PERFORCE (Perfluorinated Organic Compounds in the European Environment).

Limiti di riferimento

PFOA

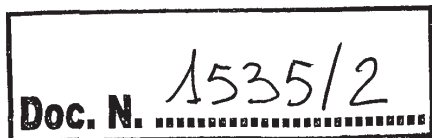
BAT (2006) Valore Limite Biologico per esposizioni professionali: 5.000 $\mu\text{g/l}$ nel siero
(*The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations 2015, DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft* © 2015 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA)

DNEL (Derived No Effect level) per i lavoratori esposti: 2000 $\mu\text{g/l}$ nel siero
per i consumatori: 800 $\mu\text{g/l}$ nel siero

proposto nel Chemical Safety Report (REACH, Annex I) nel 2008 da parte dei produttori europei con il supporto dell'UBA (German Institute for Occupational Safety and Health (BAuA) and the German Institute for Risk Assessment (BfR).

PFOS

BAT (2010) Valore Limite Biologico per esposizioni professionali: 15.000 $\mu\text{g/l}$ nel siero
The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations 2015, DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft © 2015 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA)



Doc. 1535/2

Relazione tecnica

I COMPOSTI PERFLUOROALCHILICI COME INQUINANTI DELLE ACQUE PER CONSUMO UMANO

**CARATTERISTICHE, DIFFUSIONE, ASPETTI
TOSSICOLOGICI, STANDARD DI QUALITA'
AMBIENTALE**

Prof. Gianluca Maria Farinola

01/11/2016

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

SINOSI

La presente relazione tecnica è stata redatta a conclusione dell'incarico conferito al sottoscritto dalla "Commissione Parlamentare di Inchiesta sulle Attività Illecite Connesse al Ciclo dei Rifiuti e su Illeciti Ambientali ad Esse Correlati" con nota del Presidente On. Bratti in data 18 maggio 2016 (Prot. n. 3950).

La relazione delinea una sintesi dello stato delle conoscenze tecnico scientifiche attuali sui composti perfluoroalchilici (PFAS) come inquinanti ambientali potenzialmente pericolosi per la salute umana, con particolare riferimento all'inquinamento di corpi idrici interni per approvvigionamento di acqua potabile e per uso irriguo in agricoltura.

Il primo paragrafo introduttivo definisce i composti perfluoroalchilici presentandone le principali caratteristiche chimico-fisiche che ne spiegano le proprietà come sostanze inquinanti, la diffusione e la persistenza nell'ambiente.

Il secondo paragrafo è dedicato alla diffusione ambientale ed alle modalità di assunzione di tali composti da parte dell'uomo, facendo in special modo riferimento alla contaminazione dei corpi idrici interni, ed in particolare a quelli utilizzati per approvvigionamento di acqua potabile o per uso agricolo, che possono immettere i PFAS nella catena alimentare. Dopo aver illustrato alcuni casi di studio di inquinamento di falde acquifere da PFAS, vengono presentati alcuni valori numerici di soglia fissati da vari organismi di controllo per le concentrazioni limite ammissibili nelle acque o i parametri di qualità ambientale.

Segue un terzo paragrafo dedicato alla letteratura scientifica sugli aspetti tossicologici, iniziando dai modelli animali (ai quali la maggior parte degli studi oggi disponibili si riferisce) per poi passare a delineare le principali conclusioni di alcuni studi epidemiologici sull'uomo che, come si dirà, sono ancora piuttosto frammentari e contraddittori. Sebbene il quadro non sia conclusivo, esistono numerose indicazioni di tossicità per l'uomo, soprattutto subacuta e subcronica, indicazioni che rendono necessaria la definizione di adeguati standard di sicurezza ambientale e la disposizione di misure precauzionali a protezione della salute dei cittadini.

Un paragrafo di conclusioni riepiloga in modo critico le informazioni riportate nella relazione circa il profilo di pericolosità ambientale e tossicologica dei PFAS.

Sono allegate alla relazione tre pubblicazioni su riviste specialistiche internazionali che permettono di risalire in modo analitico alla letteratura scientifica significativa sull'argomento.

1. INTRODUZIONE AI COMPSTI PERFLUOROALCHILICI COME INQUINANTI AMBIENTALI

Questo paragrafo introduttivo definisce i composti perfluoroalchilici presentandone le principali caratteristiche chimico-fisiche che ne spiegano le proprietà come sostanze inquinanti, con particolare riferimento alle acque, la diffusione e la persistenza nell'ambiente.

I composti perfluoroalchilici (Perfluoroalkyl substances - PFAS) sono molecole organiche caratterizzate dalla presenza di lunghe catene di atomi di carbonio legati ad atomi di fluoro (catene perfluoroalchiliche). Tali catene sono associate, in alcuni di questi composti, ad altri gruppi chimici noti come gruppi carbossilici o gruppi solfonici.

La presenza di catene perfluoroalchiliche in associazione ai gruppi carbossilici o solfonici (che sono gruppi ionizzabili, ossia gruppi in grado di assumere una carica elettrica e, quindi, di solubilizzarsi in acqua), conferisce a queste sostanze un carattere anfifilico; in altri termini, esse manifestano contemporaneamente un certo grado di lipofilità (che contribuisce al loro assorbimento in tessuti animali e vegetali) combinato a caratteristiche idrofile (solubilità in acqua).

Inoltre, la presenza di numerosi atomi di fluoro determina proprietà del tutto peculiari di affinità per altre matrici specifiche e di solubilità in fasi fluorese. Queste proprietà sono denominate fluorofile.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

La natura anfifilica e le caratteristiche fluorofile rendono i PFAS una classe di composti particolarmente insidiosi, sotto il profilo della loro diffusione ambientale.

Invero, non solo questi composti sono capaci di diffondere attraverso i mezzi acquosi (ad esempio corpi idrici interni, falde sotterranee), ma hanno anche proprietà di bioaccumulo nei tessuti degli organismi e di aumento di concentrazione lungo la catena alimentare, la biomagnificazione.

A sua volta, il bioaccumulo non segue prevalentemente il comportamento più comune delle sostanze inquinanti organiche, ossia l'accumulo nei tessuti grassi, ma si connota per una singolare affinità per le proteine. Per questa ragione i PFAS sono sostanze che si accumulano prevalentemente nel sangue e nel fegato.

I PFAS non possono essere metabolizzati dai mammiferi ma solo eliminati mediante escrezione, e possono attraversare la barriera placentare. All'interno del corpo, si legano alle proteine e si distribuiscono nel siero del sangue, nei reni, nel fegato, e sono stati rilevati anche nel latte materno.

Il tempo di dimezzamento nell'uomo è compreso tra i due ed i nove anni.

Alle caratteristiche chimico-fisiche sopra discusse si aggiunge la particolare stabilità di queste molecole, dovuta principalmente alla grande forza del legame chimico tra gli atomi di carbonio e di fluoro. Tale stabilità rende i PFAS molto resistenti alla degradazione ambientale sia ossidativa (ossidazione da parte dell'ossigeno atmosferico e per via microbiologica), sia fotochimica (processi di

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

degradazione indotti dall'esposizione alla radiazione solare, in particolare alla radiazione ultravioletta).

La straordinaria stabilità chimica comporta un'elevata persistenza ambientale, che si traduce nella permanente presenza di questi composti nei comparti direttamente contaminati ed in quelli in cui essi si propagano, ad esempio attraverso scambi idrici, anche per anni dopo che la sorgente di immissione sia stata rimossa.

Un dato molto efficace per far comprendere la persistenza e la diffusione ambientale delle sostanze perfluoroalchiliche è rappresentato dalla contaminazione rilevata nelle popolazioni Inuit di Nunavut (Canada)¹, popolazioni che abitano siti remoti e la cui dieta è costituita principalmente da carne di Caribou, che evidentemente non è esente dall'accumulo di queste molecole prodotte a migliaia di km di distanza.

La combinazione delle caratteristiche chimico-fisiche sopra discusse, ossia (a) facilità di diffusione attraverso i corpi idrici, (b) tendenza alla bioaccumulazione nell'organismo degli animali, inclusi i mammiferi, e alla biomagnificazione, (c) stabilità che causa elevatissima persistenza e diffusione, dà immediata intuizione della pericolosità ambientale dei PFAS.

Lo stesso insieme di caratteristiche chimico-fisiche che spiega l'elevata pericolosità ambientale dei PFAS, è anche alla base del loro straordinario interesse tecnologico e li rende in molti casi insostituibili in numerose applicazioni, con ciò giustificandone l'ampio uso industriale, connesso a una produzione massiva.

¹ S.K. Ostertag, B.A. Tague, M.M. Humphires, S.A. Tittlemier, H.M. Chan "Estimated dietary exposure to fluorinated compounds from traditional foods among Inuit in Nunavut, Canada" Chemosphere 2009, 75: 1165-1172.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Le sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) trovano applicazione nei campi più disparati: trattamento di superfici e di tessuti, produzione della carta, formulazione di vernici di edifici, produzione di cosmetici, composizione di insetticidi, schiume antiincendio e, soprattutto, come intermedi nella produzione di fluoropolimeri.

La classe dei PFAS include moltissime di specie chimiche, ma gli studi ambientali si sono concentrati soprattutto sugli acidi perfluoroalchilici (PFAA), come, ad esempio, gli acidi perfluoroalchil solfonici (PFSA) e gli acidi perfluoro alchil carbossilici (PFCA).

I due PFAS più comunemente utilizzati e, quindi, maggiormente rinvenuti nell'ambiente, sono l'acido perfluorooottansolfonico (o il suo anione perfluorooottansolfonato) (PFOS) e l'acido perfluorooottanoico (o il suo anione perfluorooottanoato) (PFOA). Questi composti sono molto utilizzati nell'industria e la loro persistenza nell'ambiente, associata alla bioaccumulazione e biomagnificazione, solleva preoccupazioni crescenti sui rischi per le popolazioni esposte.

Tali preoccupazioni sono supportate dai numerosi studi descritti nella letteratura scientifica su animali modello e dalle indagini tossicologiche riassunte nel paragrafo 3 di questa relazione le quali, sebbene ancora frammentarie e talvolta contraddittorie, suggeriscono inequivocabilmente la necessità di adozione di misure di sicurezza e di appropriati standard di qualità ambientale relativamente alla diffusione di questi inquinanti, al fine di proteggere la salute dei cittadini esposti.

Per tale ragione la Commissione Europea ha incluso il PFOS nella lista delle sostanze inquinanti prioritarie, fissando lo Standard

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

di Qualità Ambientale (Environmental Quality Standard, EQS) a 0.65 ng/L per l'acqua dolce e 9.1 ng/g, per il biota (Direttiva 2013/39/EC). Non sono definiti invece dalla Commissione Europea i parametri di qualità ambientale per il PFOA, sebbene il suo profilo di pericolosità sia ben conosciuto: il PFOA è un composto Persistente, Bioaccumulativo, e Tossico (PBT), che può causare effetti severi ed irreversibili sull'ambiente e sulla salute umana. Il PFOA ha una classificazione nell'Annex VI della European Regulation (EC) n.ro 1272/2008 sulla Classificazione, Etichettatura e Confezionamento di Sostanze e Miscele (CLP). In questo documento il PFOA è classificato come carcinogeno (Carc.2), tossico per la riproduzione (Repr. 1) e sono definite indicazioni per lo stoccaggio e la manipolazione per evitare danni epatici (Band STOT RE 1 - liver).

A causa delle sue proprietà di persistenza, bioaccumulo e tossicità (PBT) il PFOA ed i suoi sali di ammonio (APFO) sono stati classificati tra le sostanze di rischio molto alto (Substances of Very High Concern - SVHC) nell'ambito della regolamentazione REACH, in virtù di un accordo unanime, intervenuto tra gli stati membri EU nel mese di luglio 2013.

Nonostante questa identificazione, la Commissione Europea, al momento, non ha stabilito per PFOA e per altri PFAS alcun limite nell'ambiente acquatico. Della definizione di standard di qualità ambientali relativi all'ambiente acquatico per queste sostanze nei paesi europei ed in Italia si discute nel paragrafo successivo.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

2. DIFFUSIONE AMBIENTALE, ASSUNZIONE UMANA DEI PFAS E DEFINIZIONE DI LIMITI E STANDARD DI QUALITA' AMBIENTALI

Questo paragrafo introduce brevemente le principali vie di diffusione ambientale dei PFAS, con particolare riferimento al comparto acquatico, menzionando inoltre le modalità di assunzione di questi inquinanti da parte dell'uomo. Vengono presentati alcuni tra i casi più importanti descritti in letteratura di inquinamento da PFAS di sorgenti di acqua potabile, con riferimenti quantitativi alle concentrazioni in gioco. Infine, vengono riassunti i casi che hanno riguardato il territorio italiano, ed in particolare quello della Regione Veneto. L'accento è posto sugli aspetti quantitativi delle concentrazioni rilevate, e sui parametri di qualità ambientale e limiti che di volta in volta sono stati definiti. Gli aspetti tossicologici sono invece discussi nel successivo paragrafo 3.

Esistono varie modalità attraverso le quali le sostanze perfluoroalchiliche possono essere assunte dall'uomo, alcune delle quali anche inattese, quali inalazione (anche in ambienti domestici) e contatto con oggetti contaminati, pur se ovviamente la fonte primaria è costituita dall'ingestione di alimenti e di acqua potabile inquinanti.

La contaminazione degli alimenti è poi essa stessa correlata con quella dell'acqua, sia nella forma ovvia di assunzione di alimenti di origine animale (ad esempio pesce pescato o allevato in acque

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

inquinata)², sia attraverso il consumo di alimenti vegetali provenienti da colture irrigate con acque contaminate³.

Studi condotti in proposito hanno mostrato che l'assorbimento da parte di vegetali di PFOA e PFOS da suoli inquinati immette queste sostanze nella catena alimentare umana e ne spiega la presenza - ad esempio - anche in alimenti di origine animale, fino a ritrovarsi nel sangue e nel latte umano.

La rilevazione del PFOA nel sangue umano venne effettuata per la prima volta nel 1978 in analisi cliniche di operai della 3M (Danish EPA 2005 Project n. 1013) (cfr. doc. 1246/2, prodotto dal rappresentante dell'ENEA, Marina Mastrantonio, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016).

Solo più tardi, nel 2002, la OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) ha denunciato i pericoli legati all'uso del PFOS, come sostanza persistente nell'ambiente e molto tossica per i mammiferi (ibid.)

Tra i vari studi condotti in numerosi paesi europei, un'indagine dell'Agenzia di Sicurezza Tedesca (BfR) ha valutato l'esposizione quotidiana attraverso la dieta a PFOA e PFOS.⁴ Da questo studio è emerso che l'acqua potabile gioca, in condizioni normali, un ruolo relativamente limitato nella esposizione totale al PFOS (0.02-0.08

² Ad esempio vedasi : S.A. Tittlemier, K. Pepper, C. Seymour, J. Moisey, R. Bronson, X.L. Cao, R.W. Dabeka "Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging" J. Agric. Food. Chem. 2007, 55:3230-3210.

³ Ad esempio vedasi: T. Stahl, J. Heyn, H. Thiele, J. Hunter, K. Failing, S. Georgii, H. Brunn "Carryover of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) from soil to plants" Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2009, 57:289-298.

⁴ Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Gesundheitliche Risiken durch PFOS und PFOA in Lebensmitteln sind nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand unwahrscheinlich. Stellungnahme Nr. 004/2009 2008.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

ng/kg BW⁵/giorno) e al PFOA (0.32-0.40 ng/kg BW/giorno). Tuttavia, in caso di specifiche contaminazioni, il ruolo dell'acqua potabile nella esposizione a queste sostanze può diventare considerevole.

Due principali casi di studio, a livello mondiale, di contaminazione ambientale massiva da PFOA in acqua potabile sono stati descritti in dettaglio: il primo accaduto a Little Hocking (Ohio, USA) e il secondo a Sauerland (North Rhine Weaphalia, Germania).⁶

Il caso americano è stato documentato sin dal 2004, attraverso il monitoraggio di pozzi acquatici in un bacino di approvvigionamento idrico (Little Hocking Water Association) in Ohio vicino ad una fonte di PFOA accertata, una azienda della DuPont che produceva materiali perfluorurati, riversando nel fiume Ohio i suoi reflui idrici.

In questo studio, concentrazioni di PFOA di 1.900-10.100 ng/L (2004), 3.900-18.600 ng/L (gennaio 2005) e 1.900-6.600 ng/L (marzo 2005) furono misurate in quattro pozzi della fonte di approvvigionamento idrico centrale. A seguito di una class-action da parte della popolazione interessata, la DuPont fu costretta a finanziare una ricerca indipendente, denominata *C8 Health Project* (C8HP) per lo studio dei composti perfluorurati ad 8 atomi di carbonio (come ad esempio il PFOS e il PFOA) e dei loro effetti come contaminanti ambientali ed inquinanti pericolosi per la salute umana.

⁵ µg /Kg BW = microgrammi per chilogrammo di peso corporeo

⁶ H. Fromme, S.A. Tittlemier, W. Volkel, M. Wilhelm, D. Twardella "Perfluorinated compounds — exposure assessment for the general population in western countries" Int. J. Hyg. Environ. Health (2009), 212:239–270

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Tale studio condotto nel 2005 e 2006 su una popolazione di circa 69.000 persone residenti in sei distretti idrici interessati, e basata su questionari ed analisi ematiche, rivelò un livello medio serico di PFOA di 83 ng/L (oltre 20 volte superiore a quella media dei cittadini degli Stati Uniti, pari a 4-5 ng/L). Tale livello risultava maggiore tra coloro che consumavano verdure locali e tra gli utilizzatori di acqua di pozzo, mentre era più basso tra coloro che utilizzavano acqua in bottiglia.

La più alta concentrazione di PFOA nel siero sanguigno (374 ng/L) venne misurata tra i soggetti che usavano per la fornitura idrica esclusivamente acqua dal Centro di Approvvigionamento Idrico di Litte Hocking. L'uso privato di filtri a carbone per l'acqua permetteva una significativa riduzione del livello ematico di PFOA e PFAS. Viceversa, i soggetti che consumavano acqua proveniente dall'esterno della area della Little Hocking mostravano valori di concentrazioni di PFOA molto più bassi.⁷

Riguardo il caso della regione del Sauerland in Germania, la prima scoperta fu fatta da Skutlarek ed altri nel 2006.⁸ Gli autori riportavano livelli di insieme di 7 PFC (composti perfluoroalchilici) nell'acqua potabile tra 26 e 598 ng/L. Il composto più abbondante osservato era il PFOA, i cui valori nell'acqua potabile oscillavano tra 22 e 519 ng/L. In 6 città di quest'area furono trovate concentrazioni sopra i 100 ng/L. La proporzione di PFOA sul totale delle sostanze

⁷ E.A. Emmett, F.S. Shofer, H. Zhang, D. Freeman, C. Desai, L.M. Shaw 2006 "Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources." *J. Occup. Environ. Med.* 48, 759–770.

⁸ D. Skutlarek, M. Exner, H. Farber 2006 "Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters" *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 13, 299–307.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

perfluorurate (PFC) rilevate era 50-80%. La fonte di immissione si rivelò costituita da rifiuti industriali con elevata concentrazione di PFC, che erano stati immessi nel suolo da una compagnia di smaltimento rifiuti e disseminati da agricoltori nella regione agricola del Sauerland.

I PFC immessi nel suolo erano poi stati dilavati dall'area altamente contaminata in piccoli ruscelli e acque di superficie (fiumi Ruhr, Mohne), dai quali l'acqua potabile veniva prelevata per l'approvvigionamento di molti milioni di residenti nel distretto della Ruhr. Un controllo effettuato tra il luglio del 2006 e l'agosto del 2007 mostrò che la somma di PFOS e PFOA nell'acqua potabile da 17 impianti di fornitura di acqua potabile lungo il fiume Ruhr era al di sotto di 300 ng/L, e che i livelli medi erano tra 50 e 100 ng/L.

Nel punto più contaminato di Mohnebogen, il trattamento con carbone attivo si dimostrava efficace nel rimuovere PFOA dall'acqua potabile. La concentrazione iniziale di PFOA maggiore di 500 ng/L, osservata nel maggio 2006, declinava rapidamente a valori molto al di sotto di 100 ng/L, dopo l'uso di filtri a carbone. Questa concentrazione fu dunque stabilita come uno *standard* di qualità a lungo termine derivante da valori precauzionali per la salute.

Un dato interessante riguardo il caso in Germania è costituito dalle concentrazioni di PFOA misurate nel plasma sanguigno dei cittadini di Arnsberg, la cui sorgente di acqua potabile nel 2006 era il fiume Mohne contaminato. Tali concentrazioni risultavano da 4.5 a 8.3 volte superiore, rispetto a quello di popolazioni di riferimento nelle città vicine (Siegen, Brilon).

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Uno studio di *follow-up* ha dimostrato che l'eliminazione dei PFC dal corpo umano avviene lentamente (10 per cento all'anno per gli uomini, 17 per cento per le donne e 20 per cento per i bambini). In queste zone, dopo la contaminazione, le concentrazioni di PFOA e PFOS nell'acqua potabile erano di 640 ng/L, mentre la Commissione per l'Acqua Potabile in Germania aveva derivato una concentrazione critica di 300 ng/L, quale soglia massima per lunghe esposizioni.

Un terzo studio di contaminazione di interesse, anche se di dimensioni più limitate, è quello citato dal Direttore Generale della Direzione Prevenzione Sanitaria presso il Ministero della salute, Raniero Guerra, nel corso dell'audizione del 6 luglio 2016.

Lo studio compiuto a Tarragona (Spagna) dimostrò accumulo di PFAS a catena corta in fegato, polmoni, ossa, rene e cervello in materiale autoptico derivato da una settantina di cadaveri.

E' interessante, infine, menzionare brevemente i dati riguardanti città del Nord America, raccolti nell'ambito di uno studio Americano denominato "Multy City Study".⁹ Tale indagine ha rilevato PFOA a concentrazioni di 26-27 ng/L e PFOS a concentrazioni di 57-63 ng/L nell'acqua di rubinetto a Columbus. Nelle restanti 5 città le concentrazioni solitamente non superavano il limite di 2.5 ng/L per PFOS e 7.5 ng/L per PFOA. Solo in una campione di acqua potabile da Pensacola la concentrazione di PFOS raggiungeva i 42-47 ng/L.

⁹ US EPA, 2001. Analysis of PFOS, FOSA, and PFOA from various food matrices using HPLC electrospray/mass spectrometry. 3M Study conducted by Centre Analytical Laboratories, Inc. /http://www.ewg.org/files/multicity_full.pdf

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

In Europa, sono state riportate concentrazioni medie di PFOA minori di 2-4 ng/L in campioni di acqua potabile (14 ng/L in Germania, 1 ng/L in Francia ed 1 ng/L in Inghilterra).

Come si è menzionato al termine del precedente paragrafo, la Commissione Europea, al momento, non ha stabilito per i PFOA alcun limite nell'ambiente acquatico.

Viceversa, esistono limiti diversi stabiliti da vari enti di controllo nazionali, che sono riportati di seguito (cfr. doc. N. 1246/2):

Limiti per le acque potabili:

- US- EPA (Environmental Protection Agency - Agenzia di protezione ambientale americana):
0.4 µg /L (400 ng/L) per PFOA e 0.2 µg /L (200 ng/L) per PFOS.
- UK HPA (Health Protection Agency)
10 µg /L (10.000 ng/L) per PFOA e 0.3 µg /L (300 ng/L) per PFOS)
- Department for Environmental Protection - New Jersey
0.04 µg /L (40 ng/L) per PFOA (dunque ben più basso di quello fissato dall'EPA).

Limiti di presenza nell'organismo umano

- EFSA (Environmental and Food Safety Agency)
1.5 µg/KgBW (1500 ng/KgBW) per PFOA e
0.15 µg /KgBW (150 ng/kgBW) per PFOS

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

- UK COT (UK Committee on Toxicity)
3.0 µg /Kg BW (3000 ng/kgBW) per PFOA e
0.3 µg /KgBW (300 ng/KgBW) per PFOS
- Trinkwasserkommission (Agenzia per l'acqua potabile tedesca)
0.1 µg /Kg BW (100 ng/KgBW) per PFOA e
0.1 µg /Kg BW (100 ng/KgBW) per PFOS.

In Italia non esiste una concentrazione massima ammissibile in acqua potabile di PFOA, PFOS ed altri PFAS.

Riguardo il caso italiano, una sintesi molto precisa è riportata nella nota riassuntiva (doc. 1248/1), prodotta dal rappresentante del CNR, Stefano Polesello, nel corso dell'audizione del 25 maggio 2016.

Nel 2006 il progetto europeo PERFORCE avviò una indagine per stabilire la presenza di perfluoroderivati nelle acque e sedimenti dei maggiori fiumi europei, dalla quale risultò che il fiume Po presentava le concentrazioni massime di acido perfluorooottanoico (PFOA) tra tutti i fiumi europei. Tale evidenza relativa al bacino del Po, che puntava ad una situazione di possibile rischio ecologico e sanitario condusse, nel 2011, alla stipula di una convenzione tra MATTM (Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare) e CNR-IRSA per la "realizzazione di uno studio del rischio ambientale e sanitario associato alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche PFAS nel bacino del Po e nei principali bacini

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

fluviali italiani”. Tale progetto , della durata di due anni, terminato nel 2013, ha rappresentato il primo studio completo sulla distribuzione e le sorgenti dei composti perfluorurati nei principali bacini idrici italiani e gli eventuali rischi connessi alla loro presenza. Le campagne di monitoraggio condotte sui principali bacini idrici italiani come Po e tributari, Tevere, Adige, Arno, nonché in aree di transizione come Delta del Po e Laguna di Venezia, hanno portato a identificare alcune aree critiche per queste sostanze dovute alla presenza di sorgenti puntuali provenienti dagli scarichi di impianti per la produzione di fluoroderivati.

In particolare destava allarme il ritrovamento di PFAS in concentrazioni significative, nelle acque superficiali e potabili di una zona del Veneto influenzata dalla presenza di un impianto fluorochimico della ditta MITENI, in provincia di Vicenza: nel bacino di Agno-Fratta Gorzone si misuravano concentrazioni elevate, con valori di PFOA superiori a 1000 ng/L e di PFAS superiori a 2000 ng/L. Concentrazioni superiori a 1000 ng/L erano misurate nelle acque potabili prelevate al rubinetto in un’area della provincia di Vicenza superiore a 100 Km². A seguito dei dati prodotti da questo progetto, le autorità locali hanno immediatamente messo in atto una serie di interventi di contenimento di queste sostanze. Da ciò sono scaturite delle fasi di adeguamento normativo che di seguito vengono riassunte (riportando in lettera il già citato doc. 1248/1).

Marzo 2013: trasmissione da parte del MATTM alla Regione Veneto di una nota tecnica di IRSA-CNR che rileva la presenza di acido perfluorooctanoico (PFOA) e di acido perfluorooctansolfonico

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

(PFOS) nelle acque del vicentino circoscrivendo l'origine della contaminazione al bacino afferente all'impianto di Trissino.

Agosto 2013: con la Direttiva 2013/39/UE, l'Unione Europea ha inserito il PFOS tra le sostanze pericolose prioritarie per la qualità delle acque superficiali.

Gennaio 2014: l'Istituto Superiore Di Sanità (ISS)(nota 1584 del 16/01/14) ha proposto al Ministero della Sanità Pubblica un limite di performance in relazione alla applicazione di tecnologie per abbattere il contenuto di PFAS nelle acque destinate al consumo umano pari a: PFOS 30 ng/l; PFOA 500 ng/L e altri PFAS 500 ng/L.

Agosto 2015 ISS (nota 24565 dell'11/08/2015) ha modificato i parametri di performance per le acque potabili includendo PFBA (Acido perfulorobutanoico) (500 ng/L) e PFBS (Acido perfluorbutansolfonico) (500 ng/L).

Ottobre 2015: il decreto legislativo n. 172/2015, decreto di recepimento della Direttiva 2013/39/UE, stabilisce gli standard di qualità per PFOA PFBA (perfluorobutanoato) PFBS PFPeA (perfluoropentanoato) e PFHxA (perfluoroesanoato) e recepisce lo SQA (Standard di Qualità Ambientale) europeo per PFOS.

Aprile 2016: ISS (nota 9818 del 06/04/16) suggerisce valori limite di performance allo scarico in acqua superficiale per il territorio veneto con i valori: PFOS (30 ng/L), PFOA (500 ng/L), PFBA (500 ng/L), PFBS (500 ng/L) e somma degli altri PFAS (500 ng/L).

I valori di SQA adottati con decreto legislativo n. 172/2015, decreto che contiene anche il recepimento della direttiva

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

2013/39/UE, sono riportati nella tabella di seguito. Essi sono stati derivati dal gruppo di lavoro coordinato dal CNR-IRSA (Dott. Valsecchi e Dott. Polesello) che ha coinvolto, oltre che lo stesso CNR IRSA, anche ricercatori di ISPRA ed ISS. Le modalità con cui questi valori sono stati derivati sono illustrate nella relazione tecnica finale del Gruppo di Lavoro (doc. n. 1515/2 e 1248/2) e discussi in un articolo scientifico pubblicato su rivista interazionale¹⁰ che costituisce l'allegato 3 al presente documento.

Inquinante	SQUA-MA (Standard di Qualità Ambientali) acque superficiali interne (ng/L)	Valore soglia acque sotterranee (ng/L)	Valore soglia acque sotterranee in interazione con acque superficiali (ng/L)
PFBA	7000	-	-
PFBS	3000	3000	3000
PFPeA	3000	3000	3000
PFHxA	1000	1000	1000
PFOA	100	500	100
PFOS (sostanza prioritaria)	0,65		

Per li PFOS è stato recepito quanto stabilito dalla direttiva 2013/39/UE.

Il dott. Polesello ha anche presentato questo lavoro in audizione alla Commissione in data 25 maggio 2016.

¹⁰ S. Valsecchi, D. Conti, R. Crebelli, S. Polesello, M. Rusconi, M. Mazzoni, E. Preziosi, M. Carere, L. Lucentini, E. Ferretti, S. Balzamo, M.G. Simeone, F. Aste "Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids" *Journal of Hazardous Materials*, **2016**

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

3. EFFETTI TOSSICOLOGICI

In questo paragrafo si delinea sinteticamente un quadro degli studi tossicologici sugli effetti dei PFAS, ed in particolare PFOS e PFOA. La letteratura in merito è molto ampia, quindi è stato necessario effettuare una scelta degli esempi più significativi, attingendo sia dalla letteratura scientifica che da alcuni documenti acquisiti dalla Commissione. Il quadro complessivo che emerge dagli studi su animali modello e da alcune indagini epidemiologiche su popolazioni esposte a questi inquinanti appare ancora piuttosto frammentario, ed in alcuni casi contraddittorio. E' tuttavia possibile che, almeno nel caso di alcune patologie, l'esposizione a questi inquinanti possa rappresentare un notevole fattore di rischio, anche se relazioni quantitative in dipendenza delle dosi non sono ancora state stabilite.

Gli studi tossicologici sui PFAS sono molto numerosi¹¹ e, sebbene ancora non sufficientemente sistematici per permettere di giungere a delle affermazioni conclusive in termini di relazioni causa-effetto e di determinazioni quantitative sulle soglie minime di rischio, tuttavia senza dubbio nel loro insieme evidenziano ragioni di preoccupazione circa la minaccia che questi inquinanti possono rappresentare per la salute di cittadini a seguito di esposizioni prolungate, soprattutto a concentrazioni elevate.

Di seguito, sono citati alcuni esempi significativi di questi studi senza pretesa di un'esaustività che andrebbe oltre agli scopi del presente documento. Per una lettura più dettagliata si rimanda il lettore alla consultazione degli allegati allegato 1 e 2)^{6,11}

In particolare, per ovvi motivi, gli studi sono stati principalmente condotti su modelli animali. Gli studi diretti degli effetti sull'uomo

¹¹ T. Stahl, D. Mattern, H. Brunn "Toxicology of perfluorinated compounds" Environmental Sciences Europe 2011, 23:38 <http://www.enveurope.com/content/23/1/38>

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

sono per lo più basati su indagini epidemiologiche che, in molti casi, conducono a conclusioni contraddittorie anche a causa della eterogeneità delle condizioni e dei campioni di popolazione analizzati.

Le ricerche sono abbastanza concordi nell'indicare una moderata tossicità acuta del PFOS e del PFOA, e si concentrano perciò prevalentemente sugli effetti di tossicità subacuta e subcronica, che sicuramente sono più rilevanti.

3.1 Studi su animali modello

Gli studi di tossicità subacuta e subcronica di PFOA e PFOS condotti su animali modello (principalmente ratti e scimmie, talvolta pesci e polli) mostrano che i risultati dipendono significativamente dalla specie esaminata. Alcuni effetti comuni a molti animali modello utilizzati sono a carico del fegato, del metabolismo lipidico e del peso corporeo. E' stata inoltre riportata una incrementata mortalità degli individui. Negli animali modello più comunemente utilizzati (ratti e scimmie) il fegato e la tiroide, insieme al polmone e ai reni, sono i principali organi bersaglio.

Gli effetti riscontrati sono altamente dose-dipendenti: ad esempio, in studi sui ratti sono stati definiti due limiti estremi: "assenza di effetti (0.06 mg/kg BW/day) e "modifiche reversibili epatiche" (0.64 mg/kg BW/day).¹² Le ricerche hanno anche dimostrato che il PFOS si accumula principalmente nel fegato e, a

¹² R.G. Perkins, J.L. Butenhoff, G.L. Jr Kennedy, M.J. Palazzolo "13-week dietary toxicity study of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in male rats" Drug. Chem. Toxicol. 2004, 27:361-378

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

concentrazioni più basse, anche in altri organi quali milza, cuore e siero sanguigno.

Si elencano qui di seguito in modo molto sintetico alcuni principali effetti rinvenuti su animali modello.

1) Carcinogenicità

Sono stati descritti effetti di epatotossicità e carcinogenicità epatica, e anche una maggiore incidenza di tumori di cellule pancreatiche.¹³ Al contrario alcuni studiosi sono giunti alla conclusione che non si osserva maggiore incidenza di tumori alla mammella nei ratti dopo l'esposizione al PFOS.¹⁴

2) Genotossicità ed effetti epigenetici

Vari studi *in vivo* ed *in vitro* hanno mostrato che PFOS e PFOA non sembrano essere genotossici.¹³

3) Tossicità riproduttiva e di sviluppo

PFOS e i PFOA sembrano non interferire con la riproduzione, né portare apprezzabili effetti teratogeni. Tuttavia, entrambe le sostanze mostrano tossicità nello sviluppo neonatale e prenatale, quando l'animale madre è stato esposto durante la gravidanza. Questo può comportare ridotto peso nella prole dopo la nascita,

¹³ European Food Safety Authority: Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA J 2008, 653:1-131.

¹⁴ J. F. Hardisty, G.A. Willson, W.R. Brown, E.E. McConnell, S.R. Frame, D.W. Gaylor, G.L. Kennedy, J.L. Butenhoff "Pathology Working Group review and evaluation of proliferative lesions of mammary gland tissues in female rats fed ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the diet for 2 years" Drug. Chem. Toxicol. 2010, 33:131-137.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

riduzione del numero di nati vivi e della vitalità della progenie nei primi 5 giorni di vita.¹⁵

4) Neurotossicità

Alcuni studi hanno dimostrato che il PFOS può avere influenza sul sistema neuroendocrino nei ratti. La neurotossicità si manifesta come ridotta assunzione di cibo e diminuzione del peso corporeo, influenza sul ciclo ovarico e sulla concentrazione di corticosterone e leptina nel siero sanguigno.¹⁶

E' stato anche riportato uno studio che mostra come l'effetto dei composti perfluorurati sui neuroni dell'ippocampo dei ratti dipende dalla lunghezza delle catene di atomi di carbonio delle molecole inquinanti.¹⁷ Altri effetti neurologici su ratti esposti a PFOS e PFOA si traducono in anomalie comportamentali quali, ad esempio, una ridotta o insufficiente adattabilità all'ambiente e una marcata iperattività, e colpiscono la capacità di memoria e ricognizione spaziale, anche a seguito di esposizione pre-natale. Effetti neurotossici di PFOS e PFOA sono stati osservati anche su polli¹⁸.

¹⁵ C. Lau, J.L. Butenhoff, J.M. Rogers "The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives" *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004, 198:231-241.

Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB, Strynar MJ: Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol. Sci.* 2006, 90:510-518.

¹⁶ M. E. Austin , B.S. Kasturi, M. Barber, K. Kannan, P.S. Mohan-Kumar, S.M.J. MohanKumar "Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats" *Environ. Health Perspect.* 2003, 111:1485-1489.

¹⁷ C. Liao, T. Wang, L. Cui, Q. Zhou, S. Duan, G. Jiang "Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group" *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43:2099-2104.

¹⁸ A. Pinkas, T.A. Slotkin, Y. Brick-Turin, E.A. Van der Zee, J. Yanai "Neurobehavioral teratogenicity of perfluorinated alkyls in an avian model" *Neurotoxicol. Teratol.* 2010, 32:182-186.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

5) Effetti sul sistema endocrino

Numerosi studi sugli effetti endocrini condotti sui ratti, hanno mostrato alterazioni nelle concentrazioni degli ormoni tiroidei con effetti sulla temperatura corporea e sul battito cardiaco in questi animali.¹⁹ Sono anche stati riscontrati effetti a carico degli ormoni sessuali steroidei.²⁰ Ad esempio, studi sui pesci (zebrafish, trote) hanno mostrato una riduzione della capacità riproduttiva sia nel maschio, sia nella femmina.²¹ Conseguenze, anche se non accertate, di questi sbilanciamenti ormonali possono essere costituiti da tumori tiroidei e delle ghiandole mammarie.¹³

6) Immunotossicità

L'assunzione di PFOA nei ratti conduce a una riduzione del peso corporeo e a una riduzione delle dimensioni del timo e della milza.²² D'altra parte, studi condotti su ratti femmina hanno mostrato una ridotta capacità di resistenza al virus influenzale e un aumento della mortalità, in seguito all'infezione.²³ L'immunotossicità del PFOS si estende anche alla prole adulta di madri esposte a somministrazione orale di PFOS.

¹⁹ A. E. Langley, G. D. Pilcher "Thyroid, bradycardic and hypothermic effects of perfluoro-n-decanoic acid in rats" J Toxicol. Environ. Health. 1985, 15:485-491

²⁰ C. Lau, K. Anitole, C. Hodes, D. Lai, A. Pfahles-Hutchens, J. Seed "Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings" Toxicol. Sci. 2007, 99:366-394

²¹ C. Liu, J. Deng, L. Yu, M. Ramesh, B. Zhou "Endocrine disruption and reproductive impairment in zebrafish by exposure to 8:2 fluorotelomer alcohol" Aquat. Toxicol. 2010, 96:70-76.

²² Q. Yang, Y. Xie, J. W. Depierre "Effects of peroxisome proliferators on the thymus and spleen of mice" Clin. Exp. Immunol. 2000, 122:219-226.

²³ K. S. Guruge, H. Hikono, N. Shimada, K. Murakami, J. Hasegawa, L.W. Yeung, N. Yamanaka, N. Yamashita "Effect of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on influenza A virus-induced mortality in female B6C3F1 mice" J. Toxicol. Sci. 2009, 3:687-691.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Va tuttavia sottolineato che gli studi concordemente indicano che la sensibilità agli effetti immunologici dipende spiccatamente dalla specie esaminata.

3.2 Studi epidemiologici sull'uomo

Gli studi epidemiologici sull'uomo sono piuttosto limitati. Parte di questi studi sono stati condotti su gruppi di persone con esposizione occupazionale. Questi per lo più sono consistiti in monitoraggi medici di operai in industrie fluorochimiche (compagnie 3M a Decatur, Alabama, USA e Antwerp in Belgio). Studi di questo tipo non sono particolarmente significativi per analizzare gli effetti tossicologici di PFAS in popolazioni esposte alla contaminazione tramite uso di acqua potabile o alimenti inquinati, in quanto si riferiscono a persone esposte a concentrazioni molto più elevate e, inoltre, sono campioni statisticamente non del tutto rappresentativi per età e sesso (per lo più maschi e in età lavorativa, quindi non bambini/ragazzi ed anziani).

Molto più limitati, anche se decisamente più significativi, sono gli esempi di studi epidemiologici relativi a popolazioni esposte per consumo di acqua potabile.

Vengono di seguito riportati a confronto due recenti studi epidemiologici, relativi a due casi di inquinamento da PFOA e PFOS di evidente interesse in questa relazione: il caso della regione Veneto, ed il noto caso dell'Ohio, divenuto un caso di riferimento nella letteratura internazionale (doc n.ro 1232/2).

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

a) Il caso della regione Veneto, uno studio epidemiologico dell'Enea (doc. 1383/1)

Questo studio prede le mosse dal rinvenimento di PFAS nelle acque superficiali, sotterranee e potabili della provincia di Vicenza e comuni limitrofi.

Due rapporti (2013 e 2014) dell' Agenzia Regionale della Protezione Ambientale del Veneto (ARPAV) e una ulteriore pubblicazione della Regione Veneto (2015)²⁴ presentavano i risultati di campionamenti nei punti di monitoraggio della rete regionale delle acque sotterranee indicando comuni nei quali veniva rilevata presenza o superamento dei limiti di concentrazione per PFAS nelle acque destinate al consumo umano e nelle acque sotterranee.

Per superamento si intende il raggiungimento di valori superiori ai livelli di performance indicati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) su richiesta del Ministero della Salute (poi trasmessi alla regione Veneto con nota prot. 2565 del 29 gennaio 2014) che, come già menzionato nel precedente paragrafo 2, corrispondono a valori : 30 ng/l per PFOS, 500 nm /l per PFOA e 500 ng/l per la somma delle rimanenti 10 sostanze PFAS. Tali limiti erano poi stati aggiornati nel 2015 includendo quelli per PFBA (500 ng/L), PFBS (500 ng/L) ed innalzando così complessivamente il limite da 1.030 ng/L a 2.030 ng/L per la somma di tutti i PFAS [PFOS (30 ng/L) + PFOA (500

²⁴ Regione Veneto. Ritrovamento di sostanze perfluoroalchiliche in alcuni ambiti del territorio regionale. Analisi integrata preliminare delle aree di esposizione e primi indirizzi di Grading del rischio. Regione Veneto, Venezia 2015.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

ng/L) + PFBA (500 ng/L) + PFBS (500 ng/L) + somma degli altri PFAS (500 ng/L)].

A seguito di questi rinvenimenti, è stato condotto uno studio epidemiologico effettuato da ENEA in collaborazione con l'Associazione dei Medici per l'Ambiente (ISDE Italia), che si è basato sui dati relativi alla qualità delle acque elaborati nell'ambito delle suddette campagne di monitoraggio dell'ARPAV e della Regione Veneto.

Si riportano di seguito in breve i risultati come descritti nella relazione trasmessa da Edoardo Bai, presidente della sezione ISDE - Associazione medici per l'ambiente - Milano, sentito nell'audizione del 6 luglio 2016, nonché nella relazione della rappresentante dell'ENEA, Marina Mastrantonio, anche lei sentita nel corso della stessa audizione (doc n.ro 1264/2 e n.ro 1383/1).

In particolare, è stata confrontata la mortalità delle popolazioni residenti nei comuni con superamento dei livelli indicati dall'ISS della concentrazione di PFAS e PFOS nelle acque potabili, con quella dei comuni dove le analisi dimostravano l'assenza di inquinamento. L'area con superamento dei livelli di PFAS si riporta essere costituita da 24 comuni, con una popolazione residente nel 2001 di 143.605 abitanti; l'area con livelli di PFOS superiore ai 30 ng/L comprendeva 19 comuni, con una popolazione residente di 131.274 abitanti; l'area con contaminazione da PFAS comprende 70 comuni, con una popolazione di 671.864 abitanti. L'indagine epidemiologica, che ha escluso i capoluoghi di provincia, è stata effettuata utilizzando la banca di epidemiologia dell'ENEA, che

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

contiene i dati di mortalità classificati per causa, relativi a tutto il territorio italiano, a livello comunale, codificati e registrati dall'Istituto nazionale di Statistica (ISTAT). In questo studio è stata confrontata la mortalità per alcune cause, selezionate sulla base delle associazioni emerse dalla letteratura scientifica tra esposizioni a PFAS e condizioni patologiche, in comuni caratterizzati dalla presenza di PFAS nell'acqua potabile a livelli superiori a quelli indicati dall'ISS, con la mortalità nei comuni confinanti privi di contaminazione. Le cause di morte prese in considerazione sono state: mortalità generale, tumore del fegato, tumore del rene, tumore della vescica, tumore del pancreas, leucemie, linfomi non Hodgkin, mieloma multiplo, tumore della mammella, tumore delle ovaie, tumore del testicolo, tumore della prostata, diabete, malattie cerebrovascolari, infarto miocardico acuto, malattia di Alzheimer e morbo di Parkinson.

Nelle popolazioni residenti nei comuni con livelli di PFAS superiori ai valori di riferimento dell'ISS sono stati osservati, come riportato nel doc. 1383/1, eccessi statisticamente significativi per la mortalità generale (9% e 10% negli uomini e nelle donne), malattie cerebrovascolari (22% e 18%) e l'infarto miocardico acuto (11% e 14%). Nelle donne sono stati rilevati anche eccessi significativi per il diabete (32%), e la malattia di Alzheimer (23%), mentre negli uomini si è osservata una minore mortalità per tumore al fegato (20%).

Nei comuni con contaminazione da PFOS superiore ai valori di riferimento ISS (doc.1383/1), in entrambi i sessi sono stati rilevati nuovamente eccessi statisticamente significativi per la mortalità

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

generale (10 e 11%), le malattie cerebrovascolari (22% e 20%) e l'infarto miocardico acuto (11% e 11%). Nelle donne sono stati nuovamente osservati eccessi per il diabete (33%) e la malattia di Alzheimer (26%), ma anche per tumore del rene (28%). Come nel caso dell'esposizione a PFAS si osserva una minore mortalità maschile per tumore al fegato (8%).

In conclusione, a valle della indagine condotta, gli autori hanno riportato che nei comuni contaminati da PFAS vi sono degli eccessi statisticamente significativi della mortalità per alcune cause che non andrebbero sottovalutati in quanto anche la letteratura scientifica suggerisce un'associazione tra queste patologie e l'esposizione a PFAS.

In particolare, tali eccessi riguardano, in entrambi i sessi, la mortalità generale, la mortalità per le malattie cerebrovascolari e per l'infarto miocardico acuto, sia nell'area con superamento dei livelli di PFAS indicati dall'ISS, sia in quella con superamento di PFOS. Nelle sole donne, per entrambi i superamenti, emergono anche eccessi di mortalità per diabete e malattia di Alzheimer e, soltanto nel caso dei PFOS, anche per tumore al rene (cfr. in proposito anche il resoconto stenografico dell'audizione in data 6 luglio 2016 della dott.ssa. Marina Mastrantonio, rappresentante dell'ENEA).

E' però opportuno sottolineare nuovamente che, come rilevato anche dalla dott.ssa Marina Mastrantonio nella sua audizione, trattandosi di uno studio epidemiologico su base geografica, e pertanto descrittivo, questo non può dimostrare nessi casuali fra esposizione alle sostanze in questione ed effetti rilevanti, anche

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

perché le patologie esaminate sono ad eziologia multipla, e mancano dei chiari dati di dipendenza dalle dosi.

b) Lo studio epidemiologico denominato Progetto Salute C8 in Ohaio

Un altro studio epidemiologico di notevole importanza è quello condotto nell'ambito del progetto Salute C8 negli USA, come risultato di una azione legale collettiva (Class Action) intentata da una comunità della Mid Ohio Valley (USA) fortemente esposta a PFOA attraverso acqua potabile contaminata dall'industria chimica DuPont's Weet Virginia Washington, nel sud ovest di Parkersburg. L'industria è stata responsabile di emissioni di PFOA nell'aria e di sversamenti nel fiume Ohio a partire dagli anni cinquanta. Il PFOA così immesso nell'ambiente ha raggiunto riserve idriche di falda ed è stato riscontrato nel 2002. La Class Action operata dalla comunità contro la DuPont ha provocato un Accordo Transattivo nella Circuit Court Wood County.

Nell'ambito dell'insediamento anzidetto, Brookmar Inc., ha condotto un'indagine durata un anno (agosto 2005 - luglio 2006) denominata progetto salute C8 (Health Project C8 HPC8). Il progetto ha raccolto informazioni attraverso interviste e questionari e campioni di sangue da circa 69.000 soggetti residenti nei pressi dell'industria in West Virginia. L'accordo ha stabilito, inoltre, la designazione di un panel di scienziati esperti di salute pubblica, per valutare se ci fosse un probabile legame tra l'esposizione a PFOA ed effetti sanitari nella comunità.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Il Panel di esperti, dopo la realizzazione degli studi epidemiologici e la valutazione della evidenza complessiva disponibile, di cui si è già accennato nel paragrafo 2 a proposito di concentrazioni rilevate, ha prodotto una valutazione di “probabilità di associazione” tra l’esposizione al PFOA ed effetti sulla salute nella comunità del Mid Ohio, depositando alla fine presso la Corte di Giustizia un dettagliato “rapporto di valutazione”, corredato da conclusioni sulla base delle evidenze disponibili.

In sintesi, le conclusioni dei rapporti di valutazione sugli effetti studiati sono:

1) patologie per le quali il Panel, sulla base degli studi condotti e dei dati disponibili, conclude che NON SUSSISTE un’associazione probabile con l’esposizione a PFOA nella popolazione in studio. Questi sono: malattie croniche del rene, malattie epatiche, osteoartrite, morbo di Parkinson, ictus, malattie infettive, malattie respiratorie, diabete di tipo II, ipertensione, malattie coronariche, malattie autoimmuni, ventuno sedi tumorali (tranne testicolo e rene), disordini nello sviluppo neurologico di bambini, difetti congeniti, aborti spontanei e nati morti, nascite premature e basso peso alla nascita;

2) per il melanoma, il tumore della tiroide, il panel conclude che l’evidenza di un link con l’esposizione al PFOA è limitata ma non sufficiente a supportare una probabile associazione;

3) patologie per le quali il Panel, sulla base degli studi condotti e dei dati disponibili, conclude che SUSSISTE un’associazione probabile con l’esposizione a PFOA nella popolazione in studio:

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Ipercolesterolemia, colite ulcerosa, malattie tiroidee, tumori del testicolo e del rene, ipertensione indotta dalla gravidanza e preecampsia.

Oltre agli esempi di studi epidemiologici sull'uomo sopra riportati (il caso del Veneto e quello dell'Ohio) vi sono altre ricerche pubblicate sugli effetti dei PFAS e più in generale dei PFC, alcune delle quali meritano di essere menzionate poiché, sebbene meno generali e riferite a campioni statisticamente meno significativi, e talvolta contraddittori, aggiungono elementi ad una valutazione del quadro complessivo sulla tossicità della classe di inquinanti in discussione.

Nell'insieme tali studi indicano che:

Gli organi *target* appaiono diversi negli animali e nell'uomo, pur se va segnalato che il pancreas è stato visto essere prone alla crescita cancerosa a seguito di esposizione massiva e prolungata, sia negli umani che negli animali. Ad esempio, gli studi epidemiologici sull'uomo, e in particolare sugli operai esposti a composti perfluoroorganici, non mostrano correlazioni con epatotossicità per concentrazioni di PFOS al di sotto di 6 mg/L.²⁵ Più in generale, non esistono studi conclusivi che dimostrino epatotossicità nell'uomo e questo marca una notevole differenza con i modelli animali, nei quali il fegato è stato ravvisato come uno dei principali organi bersaglio.

²⁵ G. W. Olsen, J. M. Burris, J.H. Mandel, L. R. Zobel "Serum perfluorooctane and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees" J. Occup. Environ. Med. 1999, 41:799-806.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Alcuni studi volti a verificare delle correlazioni tra l'esposizione dei lavoratori e le morti per effetto di ischemie cardiache su 747 operai della DuPont Washington Works non hanno portato a definire alcuna correlazione, con ciò ribadendo ancora una volta la scarsa significatività statistica dei campioni esaminati.²⁶

Gli unici dati significativi, rinvenienti da uno studio generale su un campione di popolazione americana, sembrano associare elevati valori di PFOS e PFOA nel siero sanguigno con l'insorgenza di patologie tiroidee.²⁷

Uno studio pubblicato nel 2008 da Andreson-Mahoney su circa 600 persone esposte al PFOA attraverso l'acqua potabile sembra suggerire una maggiore incidenza, rispetto alla popolazione non esposta, di problemi quali angina, bronchiti croniche, infarti miocardici, asma, pur se la correlazione certa di questi disturbi con l'esposizione al PFOA resta da dimostrare.²⁸

Anche gli studi sugli effetti dei PFOS e PFOA sulla fertilità umana non sono ancora conclusivi. Non si è potuta infatti dimostrare nessuna correlazione definitiva tra la presenza di PFOS e PFOA nel sangue delle madri e nascite premature o problemi ai neonati pur esistendo delle deboli evidenze sulla frequenza di preeclampsia e di difetti congeniti.²⁹

²⁶ C. J. Sakr, J. M. Symons, K.H. Kreckmann, R.C. Leonard "Ischaemic heart disease mortality study among workers with occupational exposure to ammonium perfluorooctanoate" *Occup. Environ. Med.* 2009, 66:699-703

²⁷ D. Melzer, N. Rice, M.H. Depledge, W.E. Henley, T.S. Galloway "Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey" *Environ. Health Perspect.* 2010, 118:686-692.

²⁸ Anderson-Mahoney P, Kotlerman J, Takhar H, Gray D, Dahlgren J: Selfreported health effects among community residents exposed to perfluorooctanoate. *New Solut.* 2008, 18:129-143.

²⁹ C.R.Stein, D.A. Savitz, M. Dougan M "Serum levels of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and pregnancy outcome" *Am. J. Epidemiol.* 2009, 170:837-846

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Altri studi su donne gravide hanno mostrato che la durata della gravidanza e dell'allattamento al seno sono associate inversamente ai livelli di PFC (polifluorocarburi).³⁰ L'esposizione ai PFC è stata correlata con una riduzione dello sviluppo fetale e, probabilmente, con danni al sistema endocrino femminile, ma pochi altri effetti sulla salute neonatale sono stati associati con sicurezza all'esposizione ai PFC. In particolare, PFOS, PFOA, PFNA (Acido perfluorononanoico) e PFHxS (Acido perfluoroesansolfonico) sono stati rilevati nel siero di circa il 100% delle donne gravide esposte. PFC sono stati inoltre rilevati nel latte materno. La presenza diffusa di PFC nel sangue del cordone ombelicale, nel liquido amniotico e nel tessuto placentare indicano che i PFC possono attraversare la placenta. Il grado di attraversamento placentare cambia con le proprietà biochimiche di ciascun composto; in particolare, i PFC a catena corta e i PFC che si legano alle proteine grasse del sangue sono quelli che vengono più facilmente trasferiti dal siero materno al siero ombelicale. In dipendenza del congenere, il livello PFC materno può essere da uno a sei volte più alto di quello ombelicale. L'allattamento al seno è considerato una delle fonti maggiori di esposizione neonatale ai PFC; infatti, i livelli di PFC nel latte materno possono essere più alti di quelli del siero. In aggiunta, allattamenti lunghi o esclusivi sono associati a livelli più alti di PFC negli infanti.

Pare opportuno, a conclusione di questo paragrafo, citare alcuni altri esempi di studi più particolari, anche allo scopo di dare un'idea

³⁰ C. Fei, J.K. McLaughlin, L. Lipworth, J. Olsen "Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity" Hum. Reprod. 2009, 24:1200-1205

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

della ampiezza dell'indagine, dell'incertezza dei risultati ma, comunque, del grado di preoccupazione che circonda questa classe di composti.

A) Nel 2011 è stato riportato un primo studio sugli effetti neuropsicosomatici dell'esposizione ai PFAS nei bambini³¹. Questo studio suggerisce un'associazione tra l'esposizione ai PFAS e l'impulsività. Sebbene i dati siano significativi, gli autori ritengono che sia necessario estendere lo studio a un campione più ampio.

B) E' stato anche dimostrato che PFOA e PFOS possono indurre disfunzioni polmonari che esacerbano le iperresponsività delle vie respiratorie indotte da allergeni e infiammazioni.³²

C) Un primo studio completo sull'effetto dell'esposizione ai PFAS sulla qualità dello sperma umano ha dimostrato che l'esposizione a PFOA è associata a deformazioni della morfologia degli spermatozoi.³³

D) Uno studio condotto da un gruppo di ricercatori italiani su un gruppo di 38 donne gravide residenti a Roma ha mostrato una correlazione tra la presenza di PFOS e PFOA nel sangue materno e in quello del cordone ombelicale del nascituro, dimostrando di fatto un passaggio degli inquinanti dalla madre al figlio.³⁴

³¹ B.B.Gump, Q.Wu, A.K.Dumas, K.Kannan "Perfluorochemical (PFC) exposure in children: associations with impaired response inhibition" *Environ. Sci. Technol.* (2011) 45(19):8151-9.

³² M. H. Ryu, A. Jha, O. O. Ojo, T. H. Mahood, S. Basu, K. A. Detillieux, N. Nikoobakht, C. S. Wong, M. Loewen, A. B. Becker A.J. Halaiko "Chronic exposure to perfluorinated compounds: Impact on airway hyperresponsiveness and inflammation" *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* (2014) 307(10):L765-74.

³³ G.M. Buck Louis, Z. Chen, E. F. Schisterman, S. Kim, A. M. Sweeney, R. Sundaram, C. D. Lynch, R. E. Gore-Langton, D. Boyd Barr Perfluorochemicals and human semen quality: the LIFE study" *Environ. Health Perspect.* (2015) 123(1):57-63.

³⁴ M.G. Porpora, R. Lucchini, A. Abballe, A.M. Ingelido, S. Valentini, E. Fuggetta, V. Cardi, A. Ticino, V. Marra, A.R. Fulgenzi, E. De Felip "Placental Transfer of Persistent Organic Pollutants: A Preliminary Study on Mother-Newborn Pairs" *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2013), 10, 699. Tale pubblicazione è un documento acquisiti dalla commissione con numero 1245/2.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

4. CONCLUSIONI

La presente relazione tecnica è stata redatta a conclusione dell'incarico conferito al sottoscritto dalla *Commissione Parlamentare di Inchiesta sulle Attività Illecite Connesse al Ciclo dei Rifiuti e su Illeciti Ambientali ad Esse Correlati* con nota del Presidente On. Bratti in data 18 maggio 2016 (Prot. n. 3950).

L'obiettivo della relazione è stato quello di abbracciare in una visione di insieme, seppure in maniera non esaustiva, il complesso quadro relativo alle conoscenze attuali sull'inquinamento da PFAS, con particolare riferimento all'inquinamento di corpi idrici per uso irriguo e per approvvigionamento di acqua potabile, focalizzandosi sul caso del rilevamento di inquinamento da PFAS nella regione Veneto.

Si è cercato di compendiare in poche pagine, integrando lavori selezionati dalla letteratura scientifica e parte dei documenti acquisiti dalla Commissione, lo stato attuale delle conoscenze tecnico-scientifiche sulle fonti e la diffusione di questi inquinanti e sui loro effetti tossicologici.

In quest'ultimo paragrafo vengono tratte delle brevi considerazioni conclusive, specialmente in merito allo stato delle conoscenze degli aspetti tossicologici.

Il quadro generale che emerge dalla analisi della letteratura scientifica e dei documenti ed audizioni acquisiti dalla Commissione è caratterizzato da un alto grado di frammentarietà, ed in alcuni casi di contraddittorietà, delle conoscenze sugli effetti tossicologici di queste sostanze. Ciò riguarda non solo le correlazioni causa-effetto

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

tra l'esposizione all'inquinante (nella fattispecie, l'esposizione all'inquinante attraverso l'acqua potabile) e l'insorgenza di patologie, ma anche i termini quantitativi attraverso cui questa esposizione debba essere valutata.

I dati sino ad ora in nostro possesso evidenziano dei possibili nessi di causalità tra l'esposizione a PFAS e vari tipi di patologie, come discusso in dettaglio nel paragrafo precedente, tra cui principalmente alcuni tipi di tumore, disordini del sistema endocrino, problemi cardiovascolari e disturbi della fertilità. I dati in letteratura non sono concordi né nell'elenco di queste patologie, né nei limiti quantitativi di esposizione con i quali l'insorgenza di queste patologie sarebbe correlata. In molti casi gli studi epidemiologici si concludono affermando che, sebbene vi siano sospette correlazioni, non si possono trarre conclusioni causa-effetto certe, e vi sono numerosi esempi in cui gli studi si contraddicono tra di loro, giungendo a conclusioni opposte.

Complessivamente, tuttavia, le ricerche e le indagini tossicologiche forniscono indicazioni sufficienti a suggerire la necessità di adottare misure di massima precauzione consistenti nel ridurre o annullare l'esposizione dei cittadini a questi inquinanti, anche in considerazione della loro spiccata tendenza ad accumularsi nell'ambiente e nell'organismo e dei lunghissimi tempi necessari per l'espulsione delle sostanze dall'organismo stesso una volta accumulate.

I limiti di presenza di PFAS nelle acque, come discusso nel paragrafo 2, sono stati definiti dalla normativa solo per alcuni di

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

questi inquinanti, mentre per altri sono suggeriti dei parametri di qualità ambientali, calcolati sulla base delle attuali conoscenze.

Sebbene non sia noto, a causa della frammentarietà dei dati, se questi limiti siano efficaci, sottostimati o sovrastimati, essi rappresentano al momento un importante parametro quantitativo a cui far riferimento per l'adizione di quelle misure precauzionali che le informazioni oggi in nostro possesso ci impongono di adottare.

Va sottolineato che la persistenza ambientale e la tendenza ad accumularsi nell'organismo per esposizioni prolungate, in combinazione con la sospetta associazione con l'insorgenza di alcune patologie, rappresentano i maggiori fattori di preoccupazione riguardo la presenza di queste sostanze nelle acque potabili e negli alimenti, anche in basse concentrazioni.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

ALLEGATI

La relazione tecnica contiene tre allegati, che si ritiene utile inserire perché rappresentano fonti di approfondimento scientifico di quanto riportato in questo documento. Si tratta di rassegne di letteratura scientifica pubblicate su riviste internazionali, la cui consultazione consente di abbracciare in maniera abbastanza completa, ma al tempo stesso sintetica, lo stato dell'arte scientifico rilevante sull'argomento. Inoltre, le review contengono tutti i riferimenti bibliografici necessari per accedere alla letteratura scientifica specifica per tutti gli argomenti trattati.

Allegato 1 è una rassegna sugli studi epidemiologici riguardanti l'esposizione a composti perfluorurati di popolazioni nei paesi occidentali: "Perfluorinated compounds — exposure assessment for the general population in western countries" da H. Fromme, S.A. Tittlemier, W. Volkel, M. Wilhelm, D. Twardella *Int. J. Hyg. Environ. Health* (2009), 212:239–270.

Allegato 2 è una rassegna sulla tossicologia dei composti perfluorurati, "Toxicology of perfluorinated compounds" pubblicata da T. Sthal, D. Mattern and H. Brunn su *Environmental Science Europe* 2011, 23:38.

Allegato 3 è un documento prodotto da ricercatori italiani che illustra il lavoro metodologico volto a definire gli *standard* di qualità ambientali per l'acqua potabile per PFOA e per gli altri acidi carbossilici perfluorurati a corta catena, per i quali la legislazione europea non fornisce indicazioni (S. Valsecchi, D. Conti, R. Crebelli, S. Polesello, M. Rusconi, M. Mazzoni, E. Preziosi, M. Carere, L.

Relazione tecnica su inquinanti PFAS

Prof. Gianluca M. Farinola

Lucentini, E. Ferretti, S. Balzamo, M.G. Simeone, F. Aste “Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids” *Journal of Hazardous Materials*, **2016**).

Available online at www.sciencedirect.com

Int. J. Hyg. Environ. Health 212 (2009) 239–270

**International Journal
of Hygiene and
Environmental Health**www.elsevier.de/ijheh

REVIEW

Perfluorinated compounds – Exposure assessment for the general population in western countriesHermann Fromme^{a,*}, Sheryl A. Tittlemier^b, Wolfgang Völkel^a,
Michael Wilhelm^c, Dorothee Twardella^a^aDepartment of Environmental Health, Bavarian Health and Food Safety Authority, Veterinärstrasse 2,
85764 Oberschleissheim, Germany^bFood Research Division, Banting Research Centre 2203D, Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0L2^cDepartment of Hygiene, Social and Environmental Medicine, Ruhr-University Bochum, Universitätsstraße 150,
44801 Bochum, Germany

Received 27 January 2008; received in revised form 19 March 2008; accepted 7 April 2008

Abstract

Perfluorinated compounds (PFCs) can currently be detected in many environmental media and biota, as well as in humans. Because of their persistence and their potential to accumulate they are of toxicological concern. The present review presents the current knowledge of PFC monitoring data in environmental media relevant for human exposure. In this context, PFC concentrations in indoor and ambient air, house dust, drinking water and food are outlined. Furthermore, we summarize human biomonitoring data of PFC levels in blood, breast milk, and human tissues. An estimate of the overall exposure of the general adult population is provided and compared with tolerable intake values.

Using a simplified model, the average (and upper) level of daily exposure including all potential routes amounts to 1.6 ng/kg_{body weight} (8.8 ng/kg_{body weight}) for PFOS and 2.9 ng/kg_{body weight} (12.6 ng/kg_{body weight}) for PFOA in adults in the general population. The majority of exposure can be attributed to the oral route, mainly to diet. Overall, the contribution of PFOS and PFOA precursors to total exposure seems to be limited.

Besides this background exposure of the general population, a specific additional exposure may occur which causes an increased PFC body burden. This has been observed in populations living near PFC production facilities or in areas with environmental contamination of PFCs. The consumption of highly contaminated fish products may also cause an increase in PFC body burdens.

© 2008 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Keywords: PFOS; PFOA; PFC; Biomarkers; Human biomonitoring; Indoor air; House dust

Abbreviation: PFBS, perfluorobutane sulfonate; PFBA, perfluorobutanoate; PFC, perfluorinated chemical; PFDA, perfluorodecanoate; PFDoDA, perfluorododecanoate; PFDS, perfluorodecane sulfonate; PFDA, perfluorodecanoate; PFHpS, perfluoroheptane sulfonate; PFHpA, perfluoroheptanoate; PFHxA, perfluorohexanoate; PFHxS, perfluorohexane sulfonate; PFNA, perfluorononanoate; PFOA, perfluorooctanoate; PFOS, perfluorooctane sulfonate; PFOSA, perfluorooctane sulfonamide; PFOSF, perfluorooctanesulfonyl fluoride; PFUnDA, perfluoroundecanoate; *N*-EtFOSE, *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol; *N*-MeFOSE, *N*-methyl perfluorooctane sulfonamidoethanol; *N*-EtFOSA, *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamide; *N*-MeFOSA, *N*-methyl perfluorooctane sulfonamide; *N,N*-Et₂FOSA, *N,N*-diethyl perfluorooctane sulfonamide; *N,N*-Me₂FOSA, *N,N*-dimethyl perfluorooctane sulfonamide; 4:2 FTOH, 1H,1H,2H,2H-perfluoro-1-hexanol; 6:2 FTOH, 1H,1H,2H,2H-perfluoro-1-octanol; 8:2 FTOH, 1H,1H,2H,2H-perfluoro-1-decanol; 10:2 FTOH, 1H,1H,2H,2H-perfluoro-1-dodecanol.

*Corresponding author. Tel.: +49 8931 560231; fax: +49 8931 560835.

E-mail address: hermann.fromme@lgl.bayern.de (H. Fromme).

Contents

Introduction	240
Environmental monitoring	242
Outdoor air	242
Indoor air	246
Household dust	246
Contamination of food and drinking water	248
Commercially available food items	248
Contamination of fish	248
Contamination of drinking water	249
Contamination of drinking water by known sources	250
Dietary intake estimated from diet studies	250
Migration from packaged foods and non-stick cookware	251
Human biomonitoring	252
Biomonitoring of occupationally exposed populations	252
Human biomonitoring of the general population	253
Sex-related differences in blood levels	256
Analysis of structural isomers in serum and plasma	256
Exposure of the fetus	256
Exposure of children	257
Age-related exposure	258
Time trends of exposure	258
Studies in other human tissues and body fluids	258
Specific situations associated with increased exposure of the general population	259
Breast milk	259
Overall exposure assessment for adults	261
Exposure to PFOS and PFOA	261
Exposure to FOSE/FOSA and FTOH	261
Contribution of FTOHs and FOSAs/FOSEs to PFOA and PFOS exposure	262
Conclusion	264
Acknowledgment	264
References	264

Introduction

Perfluorinated compounds (PFCs) represent a large group of chemicals which are characterized by a fully fluorinated hydrophobic linear carbon chain attached to various hydrophilic heads. The chemical structures of some important PFCs are given in Fig. 1. PFCs have been produced since the 1950s and are widely used for many industrial purposes and consumer-related applications. This is due to their unique physico-chemical characteristics such as chemical and thermal stability, low surface free energy and surface active properties (Hekster et al., 2003; Lehmler, 2005). The C–F bond is particularly strong, and is resistant to various modes of degradation, including reaction with acids and bases, oxidation, and reduction (Kissa, 2001). This resistance contributes to the extraordinary stability of PFCs. While some PFCs undergo chemical transformations, these reactions occur mainly at the hydrophilic portions of the molecule, as opposed to the perfluorinated alkyl chains. The most commonly studied PFC substances are the perfluorinated sulfonates and the perfluorinated carbox-

ylates. Among these, perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) are of greatest concern. Both persist in humans and the environment.

PFOS, its precursors, and related compounds are used in many applications ranging from oil and water repellant coatings for carpets, textiles, leather, paper, cardboard, and food packing materials; electronic and photographic devices; and surfactants in diverse cleaning agents, cosmetics, and fire-fighting foams (OECD, 2002; Kissa 2001). PFOA, as its ammonium salt, is mainly used as an essential processing aid in the manufacture of certain fluoropolymers such as polytetrafluoroethylene (PTFE) and to a lesser extent in industrial applications as an antistatic additive and in the electronic industry (OECD, 2005).

There are two main processes used to commercially synthesize PFCs. PFOS, along with some other PFCs, are commercially synthesized by a process known as electrochemical fluorination (ECF), which uses an electric current to fully fluorinate organic feedstock dispersed in liquid hydrogen fluoride. During this non-selective process, the predominant perfluorinated alkyl chain

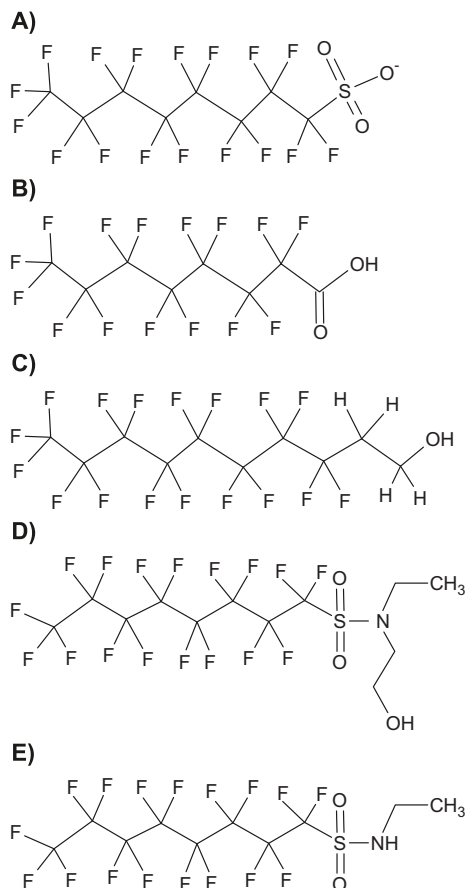


Fig. 1. Chemical structure of some typical perfluorinated substances. (A) Perfluorooctane sulfonate (PFOS), (B) perfluorooctanoate (PFOA), (C) 1-hydroxyethane-2-perfluorooctanol (8:2 FTOH), (D) *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol (NEtFOSE), and (E) *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamide (NEtFOSA).

length produced corresponds to the alkyl chain length of the organic feedstock used. However, other perfluoroalkyl homologues are also formed during ECF. For example, ECF of octanesulfonyl fluoride produces perfluorooctanesulfonyl fluoride (PFOSF) plus homologous sulfonyl fluorides and related fluorocarbons containing between 4 and 13 carbon atoms. Reaction by-products also include branched chain isomers. The resulting substances derived from various reactions with PFOSF, mainly perfluorooctane sulfonamides and perfluorooctane sulfonamide derivatives, are building blocks for different commercial perfluoroalkyl substances.

The other major commercially important process for PFC synthesis is telomerization. In this process, tetrafluoroethylene reacts with intermediate perfluoroalkyl iodides to form key compounds like fluoroalkyl silanes, carboxylates, acrylates and methacrylate polymers

(Schultz et al., 2003). Branched chain isomers are not observed in the products formed by telomerization (Kissa, 2001).

The more persistent PFCs, such as PFOS and PFOA, can also be formed in the environment from abiotic and biotic transformation of commercially synthesized precursors. During ECF and subsequent commercial reactions, numerous substances such as perfluoroalkylsulfonamide alcohols were unintentionally produced, or remained as by-products in commercial products. Most of these substances can be converted in the ecosystem and in living organisms to persistent PFCs. For example, it has been demonstrated that perfluorooctane sulfonamides can be metabolized to PFOS (Xu et al., 2004; Tomy et al., 2004). It has to be noted that PFOS may therefore be the final degradation or metabolic product of many perfluorooctylsulfonyl substances (Hekster et al., 2003).

In addition, some precursors like fluorotelomer alcohols (FTOH) will be subsequently transformed into PFOA under environmental degradation processes (Ellis et al., 2004; Dinglasan et al., 2004; Wang et al., 2005). Furthermore, there is growing evidence from some studies that 8:2 FTOH is converted to PFOA after oral uptake in mice (Kudo et al., 2005; Henderson and Smith, 2007) and rats (Fasano et al., 2006; D'eon and Mabury, 2007). These findings were confirmed by in vitro studies using rat hepatocytes (Martin et al., 2005) and hepatocytes and microsomes from various species (Nabb et al., 2007) to study the metabolism of 8:2 FTOH.

From a regulatory point of view, PFOS is classified as very persistent, very bioaccumulative and toxic, thus fulfilling the criteria for being considered as a persistent organic pollutant under the Stockholm Convention (EU, 2006). In the European Union, the use of PFOS has been restricted and the PFOS Directive aims to end the use of all PFOS as soon as practical (EU, 2006). In particular, fire-fighting foams that have been placed on the market before 27 December 2006 can be used until 27 June 2011. Similar regulatory action has been taken in North America. In Canada, PFOS, its precursors, and salts are being considered for addition to the list of Toxic Substances under the Canadian Environmental Protection Act 1999 (Government of Canada, 2006). This action would prohibit the manufacture, use, sale, offer for sale and import of PFOS, as well as manufactured items containing the perfluorooctylsulfonyl moiety. The United States Environmental Protection Agency (US EPA) has adopted federal Significant New Use Rules for PFOS and related substances for new manufacturers and new uses of these substances. These rules will allow the US EPA to evaluate any intended new uses, and subsequently restrict or prohibit these new uses.

In addition, one of the primary manufacturers of fluorinated chemicals in North America announced a

cease in production of perfluorooctanesulfonyl compounds in 2000. It was projected that from 2000 to 2002, the production of $C_8F_{17}SO_2$ -containing compounds for US Food and Drug Administration-approved uses would decrease from 1,520,000 to 0 kg (US EPA 2002).

The toxicity of PFOS and PFOA has been studied extensively, mainly in rodents. Several reviews are available that discuss results from these studies (OECD, 2002; Kennedy et al., 2004; US EPA, 2005; Harada et al., 2005b; Andersen et al., 2008; Lau et al., 2007). Hepatotoxicity, developmental toxicity, immunotoxicity, hormonal effects and a carcinogenic potency are the effects of main concern. In contrast, epidemiologic data related to PFC exposure are limited. The data were collected mainly among PFC production plant workers and have not found consistent effects on morbidity and mortality in humans.

The persistence of PFCs in the environment, plus their potential to accumulate in organisms and to biomagnify in the food chain is of particular toxicological concern. Several PFCs have been detected in nearly all environmental media and biota reflecting the widespread global pollution in all parts of the ecosystem (Giesy and Kannan, 2001). PFCs have also been detected in human blood and tissue samples from occupationally and non-occupationally exposed humans throughout the world. The persistence of certain PFCs may be a more relevant issue for humans versus other species. In contrast to investigations carried out in laboratory animals in which short half-lives of PFCs were observed, studies in retirees from PFC production facilities showed a mean elimination half-life of 3.8 years (PFOA) and 5.4 years (PFOS) (Olsen et al., 2007b). A widespread distribution of various PFCs and their corresponding degradation and metabolism products results in a very complex exposure situation. The contribution of single sources and pathways to the total exposure is currently not well defined.

The aim of this review was to compile in detail the current data available to define the environmental media responsible for human exposure to PFCs. For this purpose we used the results of different Medline inquiries to get an overview of the current scientific literature. We also included papers presented at conferences, reports from governmental, scientific and other institutions, and where possible, unpublished reports and other gray literature. In this context PFC concentrations in indoor and ambient air, house dust, drinking water, and food are outlined. Furthermore, we will summarize human biomonitoring data in blood, breast milk and human tissues. Current estimates of the overall exposure of the adult general population will also be addressed. All these data will be discussed in relation to present benchmark values used for risk assessment.

Environmental monitoring

For the assessment of human exposure to PFCs, different pathways have to be considered. Exposure via inhalation may result from outdoor air and indoor air PFC pollution, and from PFC in house dust. Oral exposure is mainly determined by contamination of food and drinking water. Ingestion of dust and soil due to hand-to-mouth activities may also contribute to the internal exposure for children. However, this paper will focus mainly on exposure pathways of adults. Data from PFC monitoring in environmental samples are discussed in the following sections.

Outdoor air

The neutral and more volatile PFCs [e.g. fluorotelomer alcohols (FTOHs), perfluorooctane sulfonamidoethanols (FOSEs), and perfluorooctane sulfonamides (FOSAs)] have been measured in outdoor air from various locations. Results from these analyses are given in Table 1.

In rural areas of Canada concentrations of 34 and 36 pg/m³ (*N*-MeFOSE) and 68 and 85 pg/m³ (*N*-EtFOSE) were found, respectively, while in urban sites concentrations were higher (101 pg *N*-MeFOSE/m³ and 205 pg *N*-EtFOSE/m³) (Martin et al., 2002). An urban–rural gradient was found in Germany too. Mean total concentrations of FOSEs/FOSAs (*N*-MeFOSE, *N*-EtFOSE, *N*-MeFOSA, and *N*-EtFOSA) of 50 pg/m³ (9–142 pg/m³) from an urban location (Hamburg) and 26 pg/m³ (6–48 pg/m³) from a rural site (Waldhof) were observed in 2005 (Jahnke et al., 2007b). Similar concentrations were found for FOSEs and FOSAs in northwestern Europe (Ireland, UK, Norway) (Barber et al., 2007). At 7 measuring sites in Ottawa concentrations of 76–99 pg *N*-MeFOSE/m³ and 80–106 pg *N*-EtFOSE/m³, were detected (Shoeib et al., 2005a). In the vicinity of a carpet processing factory in Griffin, GA, USA, total polyfluorinated sulfonamide (*N*-MeFOSE, *N*-EtFOSE, and *N*-EtFOSA) concentrations were found to be higher during one sampling event (1549 pg/m³) probably due to specific meteorologic conditions and/or episodic point source release (Stock et al., 2004).

Measurements of single fluorotelomer alcohols in the North American troposphere ranged from 7 to 196 pg/m³ (Martin et al., 2002), whilst mean total concentrations of FTOHs ranged from 11 to 165 pg/m³ (Stock et al., 2004). In both studies higher concentrations were found in urban than rural settings. Similarly, in a German study, Σ FTOH concentrations in Hamburg were found to be 1.6 times higher compared to a rural area, reaching significance only for 4:2 FTOH and *N*-MeFOSE (Jahnke et al., 2007b). Furthermore, at four northwest European sampling sites comparable

Table 1. Concentration (range) of fluorinated organic compounds in gas and particulate phase of ambient air

Substance	Mean concentration (pg/m ³)	Sampling location	Sampling year	Number of samples (sampling sites)	Reference
<i>N</i> -MeFOSE	101 (86–123)	Canada, urban	2001	4	Martin et al. (2002)
	34, 36	Canada, rural		2	Martin et al. (2002)
	32, 16	Canada	2001–2003	2	Shoeib et al. (2004)
	83 (76–99)	Canada	2002–2003	7	Shoeib et al. (2005a)
	24–49 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	41 (15–95)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	8.6 (3.8–12)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	(<1–11)	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
<i>N</i> -EtFOSE	205 (51–393)	Canada, urban	2001	4	Martin et al. (2002)
	68, 85	Canada, rural		2	Martin et al. (2002)
	0.5 (0.3–1.0)	USA, Great Lakes	2003	8	Boulanger et al. (2005)
	9.8 and 8.5	Canada	2001–2003	2	Shoeib et al. (2004)
	88 (80–106)	Canada	2002–2003	7	Shoeib et al. (2005a)
	6.4–66 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	13 (6.0–30)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	16 (9.9–26)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	(<1–3.7)	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
<i>N</i> -MeFOSA	<5.3–6.1 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	9.0 (3.4–20)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	7.0 (3.8–11)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
<i>N</i> -EtFOSA	1.1 (0.4–2.2)	USA, Great Lakes	2003	8	Boulanger et al. (2005)
	<1.6–9.6	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	3.1 (1.3–5.9)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	2.6 (1.5–3.4)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	(<0.4–3.2)	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
ΣFOSE/ FOSA	22–403	Canada + USA	2001	26 (6)	Stock et al. (2004)
	(<2–1549) ^b				
	39–89 ^b	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	50 (9–142) ^d	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	26 (6–48) ^d	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
4:2 FTOH	1.4–114	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	54 (22–117)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	19 (3.3–45)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
6:2 FTOH	87 (30–196)	Canada, urban	2001	4	Martin et al. (2002)
	41, 16	Canada, rural		2	Martin et al. (2002)
	5–187 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	66 (33–149)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	64 (17–125)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	4.6	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
	14, 35, 55	Japan, three areas		24	Oono et al. (2008)
8:2 FTOH	55 (9–123)	Canada, urban	2001	4	Martin et al. (2002)
	40, 25	Canada, rural		2	Martin et al. (2002)
	(<LOD–20)	Canada, Arctic	2004	10	Stock et al. (2007)
	11.3–237 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	119 (62–275)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	75 (33–112)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	24	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
	550, 698, 2031	Japan, three areas		24	Oono et al. (2008)

Table 1. (continued)

Substance	Mean concentration (pg/m ³)	Sampling location	Sampling year	Number of samples (sampling sites)	Reference
10:2 FTOH	29 (7–46)	Canada, urban	2001	4	Martin et al. (2002)
	20 and 15	Canada, rural		2	Martin et al. (2002)
	7.8–75 ^a	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	35 (16–93)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	23 (10–32)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	15	Oregon, USA, remote	2006	34	Piekarz et al. (2007)
	64, 88, 229	Japan, three areas		24	Oono et al. (2008)
ΣFTOH	11–165 ^c	Canada + USA	2001	26 (6)	Stock et al. (2004)
	28 ^c	Canada, Arctic	2004	10	Stock et al. (2007)
	19.3–527 ^{a,c}	UK, Norway, Ireland	2005–2006	(6)	Barber et al. (2007)
	288 (150–546)	Germany, Hamburg	2005	7	Jahnke et al. (2007a)
	181 (64–311)	Germany, Waldhof	2005	4	Jahnke et al. (2007a)
	41 (16.0–83) ^c	USA, urban	2006	8	Kim and Kannan (2007)

^aOnly gas phase analyzed.^bSum of *N*-MeFOSE, *N*-EtFOSE, and *N*-EtFOSA.^cSum of 6:2 FTOH, 8:2 FTOH, and 10:2 FTOH.^dOnly gas phase.

concentrations from 19 to 527 pg/m³ (ΣFTOH) were observed (Barber et al., 2007).

As yet, only Jahnke et al. (2007b) analyzed for a correlation between the outdoor air temperature and the sum concentration of FOSEs/FOSAs and FTOHs observing a significant association ($r = 0.95$ and 0.97).

Air samples collected on board the German research vessel Polarstern during a cruise between Bremerhaven (Germany) and Capetown (Republic of South Africa) indicate a strong decreasing gradient from the European continent towards the southern hemisphere (Jahnke et al., 2007c). The study confirms that volatile PFCs are mainly restricted to the northern hemisphere, with maximum 8:2 FTOH concentrations of 190 pg/m³ compared to 14 pg/m³ (southern hemisphere). During a cruise crossing the North Atlantic and the Canadian Arctic Archipelago in July 2005 Shoeib et al. (2006) measured maximum concentrations of 22.7 pg/m³ (8:2 FTOH) and 23.6 pg/m³ (*N*-MeFOSE) in the gas and particulate phase. Air concentrations of these two PFCs were somewhat higher, but on the same order of magnitude as reported in urban regions like Toronto.

Results on outdoor air concentrations of the much less volatile PFOS, PFOA and similar compounds in the particulate phase are given in Table 2. In Japan, in an exposed urban setting (high traffic load) the mean PFOA concentration was 372 pg/m³ and the mean PFOS concentration 5.6 pg/m³, while in a rural area concentrations were 2.0 pg PFOA/m³ and 0.6 pg PFOS/m³ (Harada et al., 2005a). Other investigations in Japan confirmed the regional differences in PFOS

concentrations between rural (0.6 pg/m³) and urban (5.3 pg/m³) settings (Sasaki et al., 2003).

Concentration differences were also noted in samples collected from urban and rural sites in Europe. Higher concentrations of PFOS and PFOA in the particulate phase from specific areas also indicate influence from fluoropolymer production facilities. While very low concentrations of PFOA were found in rural areas of Ireland and Norway, the PFOA concentration in Manchester (UK) was found to be 341 pg/m³ in February/March and 16 pg/m³ in November/December. It is probable that the very high concentrations of 552 and 101 pg/m³ observed at the fourth site (Hazelrigg/UK), and potentially in Manchester could be explained by a nearby fluoropolymer production plant. In addition, considerably high concentrations were observed along the fence line of an industrial area in the USA where a fluoropolymer processing factory is situated. Depending on the wind direction, in a 10-week period PFOA concentrations ranged between 120,000 and 900,000 pg/m³ (Barton et al., 2006).

Sugita et al. (2007) analyzed dust samples collected on quartz fiber filters using a sampler placed on the rooftop of a building located in Wako City, Japan, in 2006. The concentrations were lower in December compared to July and also on weekends compared to weekdays with means of 4.3 and 7.3 pg/m³, respectively. According to the few data available, particulate phase concentrations in North America are similar for PFOS but lower for PFOA (Boulanger et al., 2005; Stock et al., 2007), than concentrations reported for Japan. However, this could be due to the preselection of low exposure areas

Table 2. Mean concentration (range) of PFOS and PFOA in particulate phase of ambient air

Mean concentration (pg/m ³)	Sampling location	Sampling year	Number of samples (sampling sites)	Reference
PFOS				
5.3 (2.3–22)	Urban, Japan	2001–2002	12	Sasaki et al. (2003)
0.6 (0.1–2.1)	Rural, Japan		12	
5.6 (2.5–9.8)	Urban, Japan	2001–2003	12	Harada et al. (2005a)
0.7 (0.5–1.2)	Rural, Japan		8	
2.9	Urban, Japan	2005	1	Harada et al. (2006)
2.2	Rural, Japan		1	
6.8	High traffic road, Japan		1	
5.9 ^a	Canada, Arctic	2004	10	Stock et al. (2007)
6.4 (< LOD–8.0)	USA, Lakes Erie and Ontario	2003	8	Boulanger et al. (2005)
<45	Hazelrigg, UK	2005–2006	2 (spring)	Barber et al. (2007)
1.6			10 (winter)	
46	Manchester	2005–2006	2 (spring)	
7.1			1 (winter)	
1.0	Kjeller, Norway	2005	2	
<1.8	Mace Head, Ireland	2006	4	
7.3 (3.6–15.7)	Wako City, Japan	2006	26 (July)	Sugita et al. (2007)
4.3 (0.9–8.9)			27 (December)	
0.6 (0.4–1.2) ^b	Albany, New York, USA	2006	8 (summer)	Kim and Kannan (2007)
1.7 (0.9–3.0) ^c				
PFOA				
372 (72–919)	Urban, Japan	2001–2003	12	Harada et al. (2005a)
2.0 (1.6–2.6)	Rural, Japan		8	
15.2	Urban, Japan	2005	1	Harada et al. (2006)
205	Rural, Japan		1	
320	High traffic road, Japan		1	
1.4 ^a	Canada, Arctic	2004	10	Stock et al. (2007)
552	Hazelrigg, UK	2005–2006	2 (spring)	Barber et al. (2007)
101			10 (winter)	
341	Manchester, UK	2005–2006	2 (spring)	
16			1 (winter)	
1.5	Kjeller, Norway	2005	2	
8.9	Mace Head, Ireland	2006	4	
2.0 (0.8–4.2) ^b	Albany, New York, USA	2006	8 (summer)	Kim and Kannan (2007)
3.2 (1.9–6.5) ^c				

^aGas and particulate phase.^bParticulate phase.^cGas phase.

for measurements in North America. Stock et al. (2007) described data from a remote Arctic site with mean concentrations of 5.9 pg/m³ (PFOS), 0.2 pg/m³ (PFHxS), 0.2 pg/m³ (PFDS), 1.4 pg/m³ (PFOA), 0.4 pg/m³ (PFNA) and 0.4 pg/m³ (PFDA), respectively.

Barber et al. (2007) found that PFOA was the prevailing analyte observed mainly in the particulate phase. Up to now, this point is not well understood. It can be hypothesized that source strength and different degradation processes on particulate matter were responsible for this observation.

Currently only very few studies on outdoor air PFC concentrations are available; these are mainly characterized by very small sample sizes or short sampling time

periods. Overall, the studies indicate that a concentration gradient exist between urban, rural, and remote areas for FOSEs/FOSAs as well as for PFOS and PFOA. Substantially higher concentrations observed in specific locations also highlight the influence of possible point in addition to diffuse sources for these compounds. For some of the more volatile PFCs, a temperature dependency was found in one study; in a similar fashion, another study observed seasonal fluctuations of PFOS and PFOA concentrations. Beyond the effects of these seasonal and localized geographical factors no marked differences were found between PFC outdoor air concentrations from the western countries.

Indoor air

Findings on indoor air concentrations are given in Table 3. The most comprehensive data are available from Canada, where samples were taken from four private homes in the city of Ottawa between 2001 and 2003 (Shoeib et al., 2004) and an additional 59 randomly selected homes in 2002/2003 with a different sampling technique (Shoeib et al., 2005a). While in the first study analytes were actively sampled on polyurethane foam (PUF) and glass fiber filters, in the second investigation a passive sampling method using PUF-disks (21 days sampling time) was employed. Despite this methodological difference both studies found comparable concentrations with mean values of 1110 and 770 pg/m³ (*N*-EtFOSE), 2590 and 1970 pg/m³ (*N*-MeFOSE), as well as 73 and 35 pg/m³ (*N*-MeFOSEA), for the two studies, respectively.

Considerably higher concentrations of 14,900 pg/m³ FOSEs/FOSAs were observed in the gas phase of four indoor locations in Tromsø, Norway in 2005 (Barber et al., 2007). In this study fluorotelomer alcohols were determined in the gas phase for the first time at a geometric mean sum concentration of 11,075 pg/m³. In the particulate phase only negligible amounts of the investigated PFCs could be found. The first measurements in a Norwegian office resulted in concentrations below those in private homes, probably due to the absence of typical sources such as carpets and upholstery for these compounds in offices (Jahnke et al., 2007a).

In Canada indoor to outdoor ratios reached 18 for *N*-MeFOSE and 8 for *N*-EtFOSE (Shoeib et al., 2005a), whilst in an earlier study indoor air levels exceeded outdoor air concentrations by about a factor of 100 (Shoeib et al., 2004). In the study of Barber et al. (2007) no outdoor concentrations from the vicinity of the measured indoor places are available. In comparison to other outdoor levels, however, an indoor to outdoor ratio of 30–570 (Σ FTOH) and 170–380 (Σ FOSAs/FOSEs), respectively, can be deduced.

In addition to neutral PFCs, Barber et al. (2007) analyzed various perfluorocarboxylates (PFCAs) and perfluorosulfonates (PFAS) in the particulate phase of the four aforementioned sites in Tromsø. The highest concentrations were found for PFHxA and PFOA (17.1 and 4.4 pg/m³, respectively), while among the sulfonates, only perfluorodecane sulfonate (2.6 pg/m³) exceeded the limit of quantification.

Up to now, there are only very few data on indoor air concentrations of PFCs available. It can be concluded, that the indoor PFCA and PFAS levels were not significantly elevated above outdoor air, whilst concentrations of volatile polyfluorinated compounds appear to be considerably higher in indoor than in outdoor air. Because humans spend a lot of their time in indoor

spaces much more data are needed to better characterize the exposure in the different indoor environments, such as residences and work places. Studies on seasonal variation and the influence of different furnishings will also provide important data to help examine exposure to PFCs.

Household dust

In the winter of 2002/2003, 66 randomly selected households in Ottawa, Canada were investigated (Shoeib et al., 2005a) for PFCs in dust. Dust samples were collected with a vacuum cleaner and 0.001–75.4 µg *N*-EtFOSE/g (geometric mean: 0.14 µg/g) and 0.003–8.8 µg *N*-MeFOSE/g (geometric mean: 0.11 µg/g) were found. The investigators observed a good correlation between the dust concentrations of FOSEs and the corresponding values in indoor air.

All other studies that have examined PFCs in dust have focused on the less volatile PFCAs and PFAS. In 16 Japanese houses concentrations between 0.011 and 2.5 µg PFOS/g dust (unsieved, only large particles removed) and between 0.070 and 3.7 µg PFOA/g dust were determined in dust collected from vacuum cleaner bags (Moriwaki et al., 2003). Median concentrations were 0.025 µg PFOS/g dust and 0.165 µg PFOA/g dust. A strong correlation was found between PFOS and PFOA ($r^2 = 0.99$), however the association dropped to $r^2 = 0.35$ when one outlier was removed. In another Japanese study, PFOS and PFOA were detected in all 7 collected dust samples (particle size of 75 µm to 1 mm) from 0.007 to 0.041 µg/g and 0.018 to 0.089 µg/g, respectively (Nakata et al., 2007).

In two North American studies, a wider variety of PFCAs and PFAS were studied. Dust from vacuum cleaner bags was collected in winter 2002/2003 from 67 Canadian homes and was sieved to a size of <150 µm (Kubwabo et al., 2005). The most frequently detected PFCs were PFOS at <0.002–5.065 µg/g (median: 0.038 µg/g; 33% of measurements below the limit of detection, 0.005 µg/g), PFOA at <0.002–1.231 µg/g (median: 0.020 µg/g; 37% <0.002 µg/g), and PFHxS at <0.002–4.305 µg/g (median: 0.023 µg/g; 15% <0.005 µg/g). PFC concentrations in the dust were statistically significantly correlated with the age of the houses and the floor covering. Older houses were characterized by lower concentrations of PFOS and PFOA, but not of PFHxS. All three compounds were positively correlated with each other and with the fraction of the floor covered with carpets.

Additionally, 112 dust samples were collected in 2000–2001 in Ohio and North Carolina and stored at room temperature in dark glass bottles (Strynar and Lindstrom, 2008). After sieving to <150 µm, samples were analyzed for a number of PFCAs and PFAS.

Table 3. Mean concentration (range) of volatile polyfluorinated compounds in indoor air

Substance	Concentration (pg/m ³)	Sampling location	Sampling year	Number of samples	Phase analyzed	Reference
<i>N</i> -MeFOSE	1970 (366–8190)	Canada	2002–2003	59 ^a		Shoeib et al. (2005a)
	2590 (667–8315)	Canada	2001–2003	4	Particulate	Shoeib et al. (2004)
	6018	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	363	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	727, 798	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)
<i>N</i> -EtFOSE	1100 (227–7740)	Canada	2002–2003	59 ^a		Shoeib et al. (2005a)
	770 (364–1799)	Canada	2001–2003	4	Particulate	Shoeib et al. (2004)
	5755	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	76	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	305, 815	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)
<i>N</i> -MeFOSEA	35 (12–109)	Canada	2002–2003	59 ^a		Shoeib et al. (2005a)
	≈73 (LOD ^b –283)	Canada	2001–2003	4	Particulate	Shoeib et al. (2004)
<i>N</i> -MeFOSA	6608	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	6	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
<i>N</i> -EtFOSA	59 (5.9–646)	Canada	2002–2003	59 ^a		Shoeib et al. (2005a)
	6626	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	7	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	188, 158	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)
4:2 FTOH	114	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	<20	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
6:2 FTOH	2990	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	<40	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	177, 248	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)
8:2 FTOH	2070 (261–28900)	Canada	2002–2003	52 ^a		Shoeib et al. (2007)
	3424	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	<10	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	853, 421	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)
10:2 FTOH	891 (104–9210)	Canada	2002–2003	52 ^a		Shoeib et al. (2007)
	3559	Norway	April–June 2005	4	Vapor	Barber et al. (2007)
	13	Norway	April–June 2005	4	Particulate	Barber et al. (2007)
	898, 1.660	Norway	2006	2 office	Vapor and particulate	Jahnke et al. (2007b)

^aPassive sampling over 21 days.^bLOD: limit of detection.

PFOS concentrations of <0.009–12.1 µg/g (mean: 0.76 µg/g; 5% < limit of quantification, 0.009 µg/g) and PFOA concentrations of 0.01–1.96 µg/g (mean: 0.29 µg/g; 4% < 0.01 µg/g) were found. For PFHxS the mean concentration was 0.87 µg/g, for PFHxA 0.12 µg/g and for PFHpA 0.11 µg/g. No differences were observed

between the two sampling regions, but a significant correlation was found between PFOS and PFOA ($r = 0.87$).

In Germany, 12 dust samples were collected with a vacuum cleaner (Fromme et al., 2008) in a pilot study. Median (range) PFOS and PFOA concentrations in

the sieved fraction ($<63\mu\text{m}$) were $0.016\mu\text{g/g}$ ($0.003\text{--}0.342\mu\text{g/g}$) and $0.011\mu\text{g/g}$ ($0.002\text{--}0.141\mu\text{g/g}$), respectively. Significantly lower median concentrations were observed in the unsieved samples (PFOS: $0.010\mu\text{g/g}$; PFOA: $0.007\mu\text{g/g}$) indicated that PFAS were mainly associated with smaller particles.

While only little information has been collected on the contamination of household dust at this point in time, the results indicate a large variability in the concentrations of the perfluorinated substances measured. Whilst the mean PFOS concentration in samples collected from Canadian and Japanese homes appear to be very similar, the mean PFOA concentration in Canada was 9 times lower than in Japan. On the other hand, very high concentrations were reported in the US study (Strynar and Lindstrom, 2008), where mean values exceed concentrations observed in the other countries by factors of 200 for PFOS and 150 for PFOA. The reasons for these differences, which may be partly due to methodological differences, are yet unknown.

Contamination of food and drinking water

Although dietary intake is assumed to be a major route of exposure for the general population, only few systematic data on PFC levels in foods are available. Often ecological or ecotoxicological questions are the focus of investigations on animals, so that information on the contamination of edible parts cannot be deduced. More detailed data are only available for PFC levels in fish, mainly in the context of surveys of fish caught in PFC-contaminated waters.

Commercially available food items

Only a limited number of studies have examined the presence of PFCs in commercially available food items. Details of these are provided in Table 4. These studies have analyzed only food items purchased from locations in North America and Western Europe; their main focus has been the analysis of PFCAs and PFAS.

Concentrations observed in all the studies conducted to date were in the sub- to low ng/g range. In 2000, the so-called “Multi-City-Study” conducted in 6 US cities observed PFOS was detected in 5 samples (milk and ground beef) and PFOA in 5 samples (green beans, apple, bread, and ground beef) at concentrations up to $0.85\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$ and 2.35 ng/g , respectively (US EPA, 2001). However, in only one of these instances (PFOS in ground beef) were the results from the duplicate consistent; for the remaining positive detections, PFCs were not detected in the duplicate analyzed. The UK Total Diet Study (TDS) found concentrations of PFOS, PFUA, PFDA, and PFTeDA up to $10\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$.

These higher concentrations were all reported in the “potatoes” composite (which included potato chips, french fries, and other potato products) (FSA, 2006). The Canadian TDS observed concentrations up to 4.5 ng/g (PFNA in beef steak) (Tittlemier et al., 2007). The maximum concentration observed in a total of 36 composite samples purchased from local stores in Tarragona County, Spain was $0.84\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$ PFOS (Ericson et al., 2007b).

The German duplicate diet study was conducted in a slightly different fashion. As with the UK and Canadian TDSs, PFCs were analyzed in prepared and otherwise cooked food. However, the duplicate diet study did not analyze food items (or composites of similar food items) separately. Samples analyzed in this study were comprised of homogenized liquid or solid portions of whole meals. The maximum concentration observed in this study was $118\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$ PFOA; although most concentrations observed were less than $0.1\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$ (Fromme et al., 2007c).

Some of the studies have also analyzed for precursors to PFOS. These studies have mainly focused on PFOSA (US EPA, 2001; FSA, 2006; Fromme et al., 2007c); only the 2006 Canadian study has examined a wider range of perfluorooctanesulfonyl compounds (PFOSAs) in food items (Tittlemier et al., 2006).

The majority of food samples analyzed did not contain detectable PFCA or PFAS residues above the various limits of detection for the analytical methods employed. Generally, less than 50% of samples analyzed did not contain detectable levels of PFCAs or PFAS and in a study from Germany using 28 samples of packed and frozen French fries none reached the limit of detection of 1 ng/g for PFOS or PFOA (Stahl, 2007). A higher percentage of samples from the Canadian TDS contained PFOSAs (Tittlemier et al., 2006), even though PFOSA itself was not detected in samples from the other studies aside from one sample in the UK TDS (FSA, 2006). This may be due in part to the lower detection limit of the gas chromatographic–mass spectrometric method used in the Canadian study (Tittlemier et al., 2005).

Contamination of fish

PFOS and PFOA have been demonstrated to bioaccumulate in fish (Martin et al., 2003a,b; Gruber et al., 2007). Thus, fish is potentially an important dietary source of these PFCs for consumers. Freshwater and marine fish, and seafood, have been analyzed for PFCs in many studies.

Generally, PFOS has been found at higher levels in fish than PFOA. High PFOS concentrations of $59\text{--}297\text{ ng/g}_{\text{fresh weight}}$ were found in muscle from fish caught in 1999 and 2000 in the American Great Lakes

(Giesy and Kannan, 2001, Kannan et al., 2005). By contrast, PFOA values did not reach the detection limit (LOD) of 36 ng/g (Kannan et al., 2005). Moreover, in China in 2004 freshly bought seafood (fish and shellfish edible portions) was analyzed for PFCs (Gulkowska et al., 2006). The PFOS concentrations ranged from 0.33 to 4.6 ng/g_{wet weight}; in one sample of shrimps a concentration of 13.9 ng/g was observed. In this study, the PFOA concentrations were between <0.25 and 1.7 ng/g and 45% of the samples contain levels below the LOD. In a Bavarian monitoring program that analyzed fish sampled from 15 bodies of water in 2005/2006, PFOS was found from 3.9 to 16.3 ng/g (19 eel samples), 7.1–14.7 ng/g (5 carp or perch), <1.0–1.3 ng/g (4 barbel), and 1.7–17.8 ng/g (5 pike) (LfU, 2007). In contrast, the PFOA concentrations in muscle of all measured fish ($n = 35$) ranged between <0.1 and 7.2 ng/g. In all 15 fish sampled in the Federal State of Hessen, Germany, PFOS and PFOA were below 1 ng/g; only in one carp a PFOS concentration of 1.8 ng/g was found (Stahl, 2007).

The difference between the observed PFOS and PFOA fish concentrations could suggest a lower potential of PFOA to bioaccumulate in fish than PFOS. Differences in bioconcentration and dietary accumulation of PFOS and PFOA have been demonstrated in laboratory experiments (Martin et al., 2003a, b; Gruber et al., 2007).

Fish sampled from areas that contain known point sources of PFCs, such as fluoropolymer or fluorochemical production plants, often contain higher PFC concentrations. For example, 3.0–52.5 ng/g PFOA were observed in fish (LfU, 2007) sampled from a waterbody with a known source of PFOA from a production plant in Bavaria. In addition, a survey on PFOS and PFOA levels in more than 200 fish was undertaken in the Federal State of North Rhine-Westphalia, Germany, in which a remarkable case of a contamination with PFCs became evident in 2006 (Wilhelm et al., 2008a). The highest level of PFOS (1100 ng/g_{wet weight}) was detected in a trout filet from a fish farm pond in the affected area. Fish (e.g. trout, chub, perch, zander) caught from contaminated rivers and lakes in 2006 and 2007 contained PFOS at levels between 6 and 425 ng/g_{wet weight}. PFOS in trout caught from non-contaminated creeks in North Rhine-Westphalia were <4 ng/g_{wet weight}. PFOA levels of fish were mostly below 2 ng/g_{wet weight}. The highest PFOA concentration (34 ng/g_{wet weight}) was measured in an eel sample. It should be noted that in the affected area only PFOA levels in surface waters were increased.

Similarly, elevated PFC concentrations were found in fish sampled from an area near a point source of PFCs. A second Bavarian Monitoring program analyzed 39 fish samples for PFOS and PFOA (LGL, 2007). The concentrations ranged from between LOQ (0.5 ng/g)

and 80.3 ng/g for PFOS and between LOQ (1 ng/g) and 20.9 ng/g for PFOA. The highest concentrations of PFOA were found in eels and perches caught in rivers containing effluent from the point source. For both compounds, concentrations in fish living in fish ponds were lower compared to fish living in contaminated river water.

Some studies have found positive correlations between PFC body burdens and self-reported fish consumption. In Poland, blood samples from 45 donors living near the Baltic Sea were analyzed in 2004 (Falandysz et al., 2006). Subjects with a high consumption of regionally captured fish ($n = 15$) showed statistically higher PFC blood levels than the comparison groups. The authors concluded that the consumption of seafood was an important determinant for internal PFC exposure. The human biomonitoring study that examined residents in the affected North Rhine-Westphalia area also found a positive association between PFOS concentrations in plasma and consumption of locally caught fish, indicating that fish intake can be an important pathway for internal PFC exposure (Hölzer et al., 2008).

Contamination of drinking water

Current studies have shown that drinking water PFC concentrations are in the low ng/l range if there is no large point source of PFCs to the drinking water source. The analysis of potable water in Japan observed PFOS concentrations between 0.1 and 51 ng/l; the majority of results (8 of 9 waterworks) did not exceed 4 ng/l (Harada et al., 2003). Only in one waterworks concentrations of 43.7 and 51 ng/l were observed. The authors explain the high values by the fact that the waterworks draws water from the river Tama, which is contaminated upstream with PFOS by a wastewater treatment plant. In other investigations, the presence of potential sources of PFCs, such as an airport, has been observed to correlate with higher PFC surface water concentrations as well (Saito et al., 2004). In this study, concentrations of PFCs in drinking water from exposed areas ranged between 5.4 and 40.0 ng PFOS/l and 1.1 and 1.6 ng PFOA/l, while in areas with no known sources concentrations were only <0.1–0.2 ng PFOS/l and 0.1–0.7 ng PFOA/l.

Results from North America are generally similar. During the American “Multi-City-Study”, PFOA was found at concentrations of 26 and 27 ng/l and PFOS at concentrations of 57 and 63 ng/l in tapwater from Columbus (US EPA, 2001). In the remaining 5 cities concentrations generally did not exceed the detection limit for PFOS (2.5 ng/l) and PFOA (7.5 ng/l). Only in one sample of potable water from Pensacola PFOS concentrations of 42 and 47 ng/l were found.

250

H. Fromme et al. / Int. J. Hyg. Environ. Health 212 (2009) 239–270

In Europe, Skutlarek et al. (2006) observed PFOA concentrations of <2–4 ng/l (13 of 16 were below the limit of detection) in 14 German, one French and one English drinking water samples. The PFOS and PFBS concentrations in these samples ranged between <2 and 6 ng/l (14 of 16 < LOD) and <2–20 ng/l (13 of 16 < LOD). In the vicinity of Lake Maggiore in Italy, concentrations of 8.1 ng/l (PFOS) and 2.4 ng/l (PFOA) were found in 6 samples of drinking water. These concentrations were very similar to the concentrations detected in the lake (Loos et al., 2007). The authors report that PFOS could not be detected in water samples from waterworks, which do not draw water from Lake Maggiore.

Contamination of drinking water by known sources

Worldwide two cases of PFOA contaminated drinking water have been studied in detail (Little Hocking, Ohio, USA and Sauerland, North Rhine-Westphalia, Germany).

Since 2004, drinking water wells in the Little Hocking Water Association, Ohio, a water catchment area in the vicinity of a localized PFOA source have been investigated. In this work, PFOA concentrations of 1900–10,100 ng/l (2004), 3900–18,600 ng/l (January 2005) and 1900–6600 ng/l (March 2005) were observed in four wells of the central water supply, as well as at the transit station to the distribution system 7200 ng/l (January 2005) (LHWA, 2005). A population-based study observed the highest PFOA concentrations in serum (median 374 ng/l) among those subjects which exclusively used water from the Little Hocking central drinking water supply (Emmett et al., 2006a). The private use of carbon water filters was associated with significant lower median blood levels, while subjects, who mostly drank water that originated from outside of the Little Hocking area, showed considerably lower serum PFOA concentrations.

The PFOA contamination in the Sauerland region was first discovered by Skutlarek et al. (2006). They reported levels of the sum of 7 PFCs in drinking water between 26 and 598 ng/l. The most abundant compound observed was PFOA; values in drinking water ranged from 22 to 519 ng/l. In 6 cities in this area concentrations above 100 ng/l were found. The proportion of PFOA in total PFCs detected was 50–80%. Industrial waste with high concentrations of PFCs was manufactured into soil improver by a recycling company and disseminated by framers on agricultural land in the rural area Sauerland. The use of the contaminated soil improver led to this substantial environmental pollution (details of this case are summarized in Wilhelm et al., 2008a). PFCs were washed from the highly contaminated area into small creeks and surface waters (Ruhr river, Möhne river,

Möhne Lake) from which drinking water is drawn for several million residents of the Ruhr District. A survey performed between July 2006 and August 2007 showed that the sum of PFOS and PFOA levels in drinking water from the 17 waterworks along the Ruhr river were below 300 ng/l, mean levels were mostly between 50 and 100 ng/l (Wilhelm et al., 2008a). At the most affected waterworks of Möhnebogen, treatment with charcoal filtration effectively removed PFOA from drinking water. The initial PFOA concentrations of > 500 ng/l observed in May 2006 rapidly declined to values mostly well below 100 ng/l after using charcoal filters. This concentration was set as a long-term minimum quality goal derived from a health-based precautionary value (DWC, 2006).

Dietary intake estimated from diet studies

At this point, only four studies which attempted to quantify the intake of PFCs via the diet have been published. Three of them used a market basket approach combining the measured concentrations in food composite samples with consumption patterns (FSA, 2006; Tittlemier et al., 2007; Ericson et al., 2008). The third study used a duplicate diet approach measuring PFC in duplicate portions of food prepared as for consumption (Fromme et al., 2007c). A summary of the results of these surveys is given in Table 4.

The first study analyzed PFCs in 20 composite food group samples from the 2004 UK TDS (FSA, 2006). The yearly composites were assembled by collecting retail food samples every fortnight from 24 locations in the UK and preparing as for consumption before compositing. PFOS was detected as the main analyte above LOD in potatoes (including chips, crisps, potato salad, hash browns, and croquettes), canned vegetables, eggs, and sugar and preserves. PFOA was detected only in the potato group. Based on the average and high (97.5th percentile) food consumption scenarios as derived from the nutritional surveys of British adults, the dietary intake of PFOS and PFOA was estimated. Concentrations below LOD were either substituted by the reporting limit (upper bound) or substituted with zero (lower bound). The estimated average daily intake was 100 ng/kg_{body weight} (PFOS) and 70 ng/kg_{body weight} (PFOA) (upper bound) or 10 ng/kg_{body weight} (PFOS) and 1 ng/kg_{body weight} (PFOA) (lower bound). The upper and lower bound intakes estimated using a high food consumption level were 200 ng/kg_{body weight} (PFOS) and 100 ng/kg_{body weight} (PFOA) and 30 ng/kg_{body weight} (PFOS) and 3 ng/kg_{body weight} (PFOA), respectively.

Tittlemier et al. (2007) estimated the dietary exposure of Canadian teenagers and adults based on 25 composite samples collected in the 2004 TDS. Various food items

Table 4. Median (range) of estimated adult daily dietary intakes in ng/kg b.w.

	PFOS	PFOA	Study location and year of sampling	Study information	Treatment of non-detects for intake estimation
FSA (2006)					
A	Lower bound: 10 Upper bound: 100	Lower bound: 1 Upper bound: 70	UK, 2004	Total diet study; yearly composite samples of 20 food groups that comprised an entire diet	Lower bound: <LOD = 0 Upper bound: <LOD = LOD
H	Lower bound: 30 Upper bound: 200	Lower bound: 3 Upper bound: 100			
Tittlemier et al. (2007)	1.8	1.1	Canada, 2004	Total diet study; 25 composite samples; only animal-derived food items and packaged food	<LOD = 0
Ericson et al. (2008)	Lower bound: 1.9/1.8 ^a Upper bound: 2.4/2.3 ^a	–	Spain, 2006	Total diet study; 36 composite samples; children 4–9 years	Lower bound: <LOD = 0 Upper bound: <LOD = LOD
Ericson et al. (2008)	Lower bound: 0.9 Upper bound: 1.1	–	Spain, 2006	Total diet study; 36 composite samples; adults	Lower bound: <LOD = 0 Upper bound: <LOD = LOD
Fromme et al. (2007c)	1.4 (0.6–4.4)	2.9 (1.1–11.6)	Germany, 2005	Duplicate diet study; 24 h food duplicates from 31 study subjects over 7 consecutive days	<LOD = 0.5 LOD

A: average food consumption.

H: high food consumption (97.5th percentile).

^aValues for male and female.

were collected from four major retail food outlets and fast food restaurants, prepared as for consumption and combined to form composites. The composites did not represent the whole diet, but included foods with a high potential of contamination or foods with contact to food packaging. A concentration of zero was assigned if an analyte was not present at concentrations above the LOD. PFCs were detected in 9 of the analyzed composites. PFOS and PFOA were detected the most frequently, in 7 and 5 samples, respectively. The estimated daily intake of all analyzed substances for Canadians (>12 years old) was 250 ng/day. PFOS contributed 44% and PFOA 28% to the total amount of PFCs ingested. The authors calculated a daily dietary PFOS and PFOA intake of 1.8 ng/kg_{body weight} and 1.1 ng/kg_{body weight}, respectively.

Ericson et al. (2008) measured different PFCs in 36 composite samples randomly purchased from Tarragona, Spain. They described similar results than the studies from Canada and Germany but higher intake levels for children compared to adult.

In a study conducted in Germany, PFCs were measured in 214 diet samples collected as food duplicates from 31 healthy subjects (15 female and 16 male) aged 16–45 years living in the southern parts of Germany (Fromme et al., 2007b,c). The participants

collected daily duplicate diet samples over seven consecutive days in 2005. The median (90th percentile) daily intake of PFOS and PFOA was estimated as 1.4 ng/kg_{body weight} (3.8 ng/kg_{body weight}) and 2.9 ng/kg_{body weight} (8.4 ng/kg_{body weight}), respectively. PFHxS and PFHxA could be detected only in some samples above the limit of detection with median (maximum) daily intakes of 2.0 (4.0) ng/kg_{body weight} and 4.3 (9.2) ng/kg_{body weight}, respectively. Because PFOSA could not be detected above the limit of detection of 0.2 ng/g this route of exposure seems to be of less significance under these study conditions for precursors of PFOS.

Migration from packaged foods and non-stick cookware

It is well known that perfluorinated substances like *N*-EtFOSA, *N,N*-Et₂FOSA, *N*-MeFOSA, and PFOSA were used in grease and water repellent coatings in food packing (Begley et al., 2005; Tittlemier et al., 2006; Sinclair et al., 2007). As a consequence, food could become contaminated by this route and contribute to human body burdens of PFOS by degradation of the aforementioned precursors.

252

H. Fromme et al. / Int. J. Hyg. Environ. Health 212 (2009) 239–270

Individual perfluorooctane sulfonamides were detected at values from 0.014 ng/g_{wet weight} (*N*-MeFOSA in Danish) to 22.6 ng/g_{wet weight} (*N*-EtFOSA in pizza) in composite samples of all food groups collected from 1992 to 2004 Canadian TDS (Tittlemier et al., 2006). A median daily dietary intake of 73 ng per person for the sum of FOSAs was estimated. The authors concluded that the dietary exposure to perfluorooctane sulfonamides occurs predominantly via consumption of foods packaged in paper products that have likely been treated with perfluoroalkyl coatings (e.g. French fries, pizza, etc.). However, the concentration of FOSAs in certain foods has decreased in recent years likely due to the cease in production of perfluorooctylsulfonyl compounds, suggesting that dietary exposure has become less significant today.

Residual PFOA could be detected in PTFE cookware (4–75 ng/g), PTFE-coated dental floss, and in PTFE film (1800 ng/g) (Begley et al., 2005). The PFOA content of PTFE film used as sealant tape is specifically high because the film is produced at low temperatures, which reduces the likelihood of PFOA volatilization. Investigations on the migration into watery and fatty simulant foodstuff demonstrated only minor transfer of PFOA from PFTE-film and PFTE-coated cookware. This was also true for PFOA-containing microwave popcorn bags. A second group of researchers came to similar conclusions regarding PFTE-coated cookware (Powley et al., 2005). Sinclair et al. (2007) emphasized that the residual contents of PFOA and FTOH in brand new non-stick cookware was not completely removed during the fabrication process and was thus released into air, particularly during the first use of the items. However, after repeated use no FTOH was released into the gaseous phase while heating the pan. Results were not as clear regarding the release of PFOA. In some cases a distinct reduction of release was observed after the repeated use; in some cases no change was observed.

Overall, the results demonstrate that the general population is exposed to perfluorinated substances via food. In addition, localized higher dietary intakes are expected under some specific environmental conditions. For example, drinking water could be an important source of exposure in areas near environmental soil contamination or fluoropolymer or other fluorochemical production plants. At this point in time, it is unlikely that localized contamination of food or, e.g. contaminated pasture grass consumed by farm animals is also an important route for elevated PFC exposures in food-producing animals. Data on PFCs in cow's milk and feedstuff from the PFC-affected area of Sauerland, Germany do not indicate a significant contribution by this route (Wilhelm et al., 2008a). The levels of PFOS and PFOA in cow's milk ($n = 4$) were below 10 ng/l. PFOA, PFOS, and other PFC levels in corn ($n = 4$),

pasture grass ($n = 4$), and maize ($n = 7$), which were grown on agriculture land with soil improver treatment were generally below 1 ng/g, only four samples had PFOA levels between 2 and 18 ng/g. However, consumption of fish and seafood could be another intake route of concern, especially for some regions (e.g. Baltic Sea or Lake Michigan) as indicated by reports of higher PFC concentrations in some samples obtained from these areas (Giesy and Kannan, 2001) and in residents that consumed locally obtained fish (Falandysz et al., 2006; Hölzer et al., 2008).

Human biomonitoring

Usually the internal exposure of PFCs is estimated based on concentrations in plasma, serum, or whole blood. Validation studies have shown that serum and plasma samples yield comparable results regarding PFOS, PFOA, and PFHxS concentrations (Ehresman et al., 2007). As yet, it was assumed that levels in whole blood are 50% below levels in serum or plasma, although the current results are not consistent. Samples with widely differing concentrations were analyzed by Ehresman et al. (2007) and a median plasma to whole blood ratio of 2.3 was observed for PFOS (ranges: 1.8–3.3 and 1.8–2.9 for whole blood collected in EDTA and heparin, respectively). For PFOA, the median ratio was 2.0; for PFHxS ratios were 2.4 or 2.1 depending on the anticoagulant used. A contrasting result was published by Kärman et al. (2006a), who analyzed whole blood and plasma samples from 5 subjects. They found a plasma to whole blood ratio of 1.2 (PFHxS), 1.4 (PFOA), 1.2 (PFOS), 1.0 (PFNA) and 0.2 for PFOSA.

Biomonitoring of occupationally exposed populations

Results describing occupational exposure to PFCs are given in Table 5. Occupationally exposed workers have very high serum PFC concentrations as compared to non-occupationally exposed populations. Biomonitoring data regarding occupationally exposed populations are available from the two major producers, 3M and DuPont, only for the years 1995–2004. The workers included in the biomonitoring studies were involved in either the production of perfluorinated substances or in the incorporation of PFCs into their final products. The data suggest a reduction in PFC body burdens over time; however, more data are needed to allow a final conclusion about the temporal trend (US EPA, 2005). The main reasons for this observable trend are not apparent. They may include the phase out of POSF production by one producer, lower emissions from processes, better occupational safety, or a combination of these factors.

Table 5. Perfluorinated substances in serum of occupationally exposed workers (data taken from Olsen et al., 2003a, c; US EPA, 2005; OECD, 2002; Olsen and Zobel, 2007)

Mean (range) in µg/l	Number of samples analyzed	Year	Location of production facility
<i>PFOS</i>			
2440 (250–12830)	90	1995	Decatur, AL, USA
1960 (100–9930)	84	1997	
1510 (90–10600)	126	1998	
1320 (60–10060)	263	2000	
1290 (60–4170)	188	2000–01	
1930 (100–9930)	93	1995	Antwerp, The Netherlands
1480 (100–4800)	65	1997	
800 (40–6240)	258	2000	
950 (40–6240)	196	2000–01	
860 (30–4790)	122	2000–01	
<i>PFOA</i>			
1720	90 (M)	1995	Decatur, AL, USA
1400	84 (M)	1997	
1540 (20–6760)	126	1998	
1780 (40–12700)	263	2000	
1497 (25–4810)	54	2002	
1130 (<LOD–13200)	93	1995	Antwerp, The Netherlands
840 (10–7404)	258	2000	
2630 (920–5690)	30	2003	
5000 (<LOD–80000)	111	1993	Cottage Grove, MN USA
6800 (<LOD–114100)	80	1995	
6400 (100–81300)	74	1997	
850 (40–4730)	131(F)	2000	
4510 (7–92030)	17(M)	2000	
4300 (70–32600)	38	2002	
3210 (70–24000)	19	1984	
2340 (60–18000)	22	1985	Washington, WV, USA
1960 (60–11000)	22	1989–90	
1560 (120–4500)	80	1995	
1530 (20–9000)	72	2000	
494 ^a (17–9550)	259	2004	

F: female; M: male; LOD: limit of detection.

^aMedian

Human biomonitoring of the general population

Comprehensive data on the internal exposure of the general population from different areas of the world are available and shown in Table 6.

In European studies, observed serum and plasma PFC concentrations range from 1 to 116 µg/l for PFOS and from 0.5 to 40 µg/l for PFOA, while in the US concentrations reach 656 µg/l (PFOS) and 88 µg/l (PFOA). Mean and median concentrations for some PFCs, such as PFOS, from North American populations appear to be slightly higher than European, Asian, and Australian populations studied. For example, in 40 pooled samples from Australia concentrations found were slightly higher than in Europe but lower than in the

US (Kärman et al., 2006b). According to an analysis of 473 samples from 9 countries, concentrations are highest in the US and Poland, medium in Belgium, Italy, Korea, Malaysia, Sri Lanka, and Brasil and lowest in India (Kannan et al., 2004). Large regional differences have also been observed in other investigations (Guruge et al., 2005; Harada et al., 2004; Olsen et al., 2003b). For example, in an US American study the median concentrations from 6 regions varied between 26.0 and 48.9 µg/l and the corresponding 90th percentiles between 48.7 and 105.3 µg/l (Olsen et al., 2003b).

Another commonly found substance that appeared to vary amongst populations was PFHxS. Concentrations reported were <0.4–40.0 µg/l for Europe, 0.1–20.9 µg/L for Asia and <0.4–712 µg/l for North America.

Table 6. Median (range) concentration of selected perfluorinated compounds in human plasma and serum of non-occupationally populations.

Concentration (µg/l)		n ^a	Age (years)	Year	Country	Reference
PFOs	PFOA					
Europe						
34.2 ^d (3.4–74)	5.0 ^d (1.0–24.8)	66	19–75	1997–2000	Sweden	Kärman et al. (2004)
17.2 (4.5–27)	4.1 (1.1–12.8)	20	19–63	1998, 2000	Belgium	Kärman et al. (2006a)
3.5 (2.5–8.0)	(<3)	8	20–59 F ^b	2001	Siena, Italy	Kannan et al. (2004)
4.2 (1.0–10.3)	(<3)	42	20–59 M ^c	2001	Siena, Italy	Corsolini and Kannan (2004)
(16–116) ^d	(9.7–40) ^d	25	35–58	2003	Poland	Kannan et al. (2004)
15.2 ^d (1.5–32.4)	3.4 ^d (1.6–6.2)	48	20–60	2006	Tarragona, Spain	Ericson et al. (2007a)
22.3 (6.2–131)	6.8 (1.7–39.3)	105	5–84	2005	Northern Bavaria, Germany	Midasch et al. (2006)
13.7 (2.1–55.0)	5.7 (0.5–19.1)	356	14–67	2005	Southern Bavaria, Germany	Fromme et al. (2007a)
4.3 (1.6–26.2)	4.9 (2.0–11.5)	80	5–6	2006	North Rhine-Westphalia, Germany	Hölzer et al. (2008)
(1.0–92.5)	(0.7–15.3)	256	18–69	2006	Germany	
Asia/Australia						
13.8 ^{e,d} (4.0–40.4)	<6.7 ^d	26	–	2002	Japan	Masunaga et al. (2002)
(<1–3.1)	(<3–3.5)	45	17–48	1998, 2000	India	Kannan et al. (2004)
3.5–28.1 ^f	2.5–12.4 ^f	205	–	2003	Japan, various locations	Harada et al. (2004)
3.3 (0.4–18.2)	4.0 (0.3–22.8)	38	24–61	2003	Sri Lanka	Guruge et al. (2005)
16.7 ^g (10.4–31.9)	1.6 ^g (<0.5–4.1)	21	21–56	2003	Japan	Inoue et al. (2004b)
(4.9–17.6)	(<0.5–2.3)	15	17–37 F	2003	Japan	Inoue et al. (2004a)
(3.0–92) ^d	(0.9–20.0) ^d	50	–	2003	Daegu, Korea	Yang et al. (2004)
27 ^g (19–41)	–	3	23–44	2002	Japan	Taniyasu et al. (2003)
22.4 (0.2–145)	4.3 (0.2–60)	119	29 ^h	2002	China	Jin et al. (2007)
52.7 ^d	1.59 ^d	85	7–66	2004	China	Yeung et al. (2006)
(3.4–92.2)	(0.4–25.5)	97	20–58	2003–2004	Japan, various locations	Harada et al. (2007a)
20.8 (12.7–29.5)	7.6 (5.0–9.9)	40 ⁱ	–	2002–2003	Australia	Kärman et al. (2006b)

At present, there are no known explanations for the single exceptionally high concentrations observed.

In some recent studies, mean PFNA concentrations of 0.3–1.1 µg/l have been observed (Kärman et al., 2006b; Calafat et al., 2006a; Ericson et al., 2007a). Calafat et al. (2007) found median PFNA concentrations (95th percentile) of 0.6 µg/l (1.7 µg/l) in 1562 serum samples collected from a representative US population 12 years of age and older in the 1999–2000 NHANES. Higher mean concentrations of 2.2 µg/l (males) and 2.9 µg/l (females) were found in a small study of 20 US citizens (Kuklenyik et al., 2004). Other PFCs, such as PFDeA or PFUA, were found at only very low concentrations, if at all.

Based on the three studies from Germany (Midasch et al., 2006; Fromme et al., 2007a; Hölzer et al., 2008), the following preliminary reference values of the general population (basis: 95th percentile values of the studies) for PFOA and PFOS in plasma of children and adults from Germany were recommended: PFOA – 10 µg/l for children, females, and males; PFOS – 10 µg/l for children, 20 µg/l for adult females, and 25 µg/l for adult males (Wilhelm et al., 2007). Reference values were normally established by the Biomonitoring Commission of the German Federal Environmental Agency (Ewers et al., 1999).

Sex-related differences in blood levels

In the majority of the studies, differences in blood levels of PFOS between sexes have been observed with higher levels in male donors (e.g. Corsolini and Kannan, 2004; Harada et al., 2004; Midasch et al., 2006; Kärman et al., 2006b; Fromme et al., 2007a; Calafat et al., 2007; Hölzer et al., 2008). However, this observation could not be confirmed in other investigations (Olsen et al., 2003b, d, 2004a; Kannan et al., 2004; Kubwabo et al., 2004; Kärman et al., 2004). Sex-related differences with respect to PFOA were reported in several investigations as well (Midasch et al., 2006; Kärman et al., 2006b; Fromme et al., 2007a; Calafat et al., 2007; Hölzer et al., 2008). Similar differences have been reported in rats exposed to PFOA. Estimated half-lives were longer in males than females in a variety of rat strains (Kudo and Kawashima, 2003, and references therein). Renal clearance of PFOA is also higher in female mice. However, other studies suggest these sex-related differences are not consistent across other species, such as dogs, rabbits, and mice (Kudo and Kawashima, 2003).

Analysis of structural isomers in serum and plasma

Synthesis of PFCs mainly employs electrochemical fluorization (ECF) and fluorotelomerization. During

ECF, the major technique of PFOS production, linear as well as branched isomers are generated, while during telomerization exclusively linear isomers are generated (Langlois and Oehme, 2006; Vyas et al., 2007).

The presence of PFOS and PFOA branched isomers was first noted in 2001 (Hansen et al., 2001). However, almost no data are available yet on the toxicokinetic behavior of the various isomers. In 70 serum and plasma samples collected in 1997–2003, the linear isomer of PFOS was found to be the most abundant. In Australian samples, the linear isomer comprised 58–70% of the total PFOS measured; it was 68% and 59% in samples collected in Sweden and Great Britain, respectively. These differences may be due to differences in isomer patterns in the source products from the various countries, or from differences in the major routes of human exposure amongst the countries (Kärman et al., 2007b). Interestingly, the proportion of the linear isomer in a standard product after ECF (76–79%) is higher than its proportion in the blood of the general population. This could indicate differential uptake of the branched and linear PFOS isomers.

In another study the pattern of PFOA isomers in 16 pooled serum samples was investigated (De Silva and Mabury, 2006). Almost 98% of PFOA in serum presented itself in the linear form (L-PFOA) and only 2% as branched isomers. This was also true for PFNA and PFUnA. In contrast, a PFOA standard product synthesized by ECF contained only 80% as L-PFOA. The authors hypothesize that the high proportion of L-PFOA in serum is partly due to exposure to and metabolism of fluorotelomer alcohols and fluorotelomer olefins, two classes of PFCs synthesized by the telomerization process.

Exposure of the fetus

It is known from animal studies that PFCs are able to cross the placenta and enter the fetus. After providing ammonium perfluorooctanoate to pregnant rats, the PFOA concentration in fetal blood increased accordingly. The concentration in fetal blood reached about 42% of the mothers blood level (Hinderliter et al., 2005).

Results from studies that examined PFCs in maternal and cord blood are presented in Table 7. Concentrations of PFOS in maternal plasma from Inuit and Inuvialuit populations in the Arctic region of Canada were higher than those reported in study populations from Japan and Germany, but consistent with PFOS concentrations previously reported for North Americans (Tittlemier et al., 2004). In addition, PFOS in umbilical cord plasma was higher than the median PFOS concentration observed in cord serum from donors in Baltimore; however, individual concentrations in the American samples were as high as 35 µg/l (Apelberg et al., 2007).

Table 7. Median (range) concentration (µg/l) of perfluorinated substances in cord and maternal blood, serum, or plasma

PFOS		Mean ratio C/M	PFOA		Mean ratio C/M	Study population location	Number of samples analyzed	Age of donors (years)	Sampling years
Maternal	Cord		Maternal	Cord					
<i>Tittlemier et al. (2004)</i>									
36.9 ^a	16.7 ^a		2.2 ^a	3.4 ^a		Northwest Territories, Canada	10 maternal plasma; 13 cord plasma		1994–2001
<i>Inoue et al. (2004a)</i>									
8.1 (4.9–17.6)	2.5 (1.6–5.3)	0.3	– (<0.5–2.3)	– (<0.5)	–	Japan	15 blood	17–37	2003
<i>Midasch et al. (2007)</i>									
13.0 (7.8–16.4)	7.3 (3.3–9.5)	0.6	2.6 (1.5–4.0)	3.4 (1.5–4.6)	1.3	Bavaria, Germany	11 plasma	23–26	2003
<i>Apelberg et al. (2007)</i>									
	4.9 (<LOD–34.8)			1.6 (0.3–7.1)		USA	299 serum		2004–2005
<i>Fei et al. (2007)</i>									
35.3 ^b (6.4–107)	11.0 ^b	0.3	5.6 ^b (<1.0–41.5)	3.7 ^b	0.5	Denmark, first trimester	1399 plasma, 50 cord blood	30 (mean)	1996–2002
29.9 ^b		0.3	4.5 ^b		0.7	Second trimester	200 plasma		

^aMean of pooled samples; LOD: limit of detection.^bMean values.

In the American study, no association between cord serum PFOA levels and the age or the education of the mother, or the sex of the child, could be identified.

In a Japanese study low concentrations of PFOS in cord blood and maternal blood were observed; the ratio between the two compartments was 0.3 (Inoue et al., 2004a). No association between the blood levels and body mass index, age, or sex of the child was found.

The analysis of cord plasma in a German population resulted in median concentrations of 13.0 µg/l for PFOS and 7.3 µg/l for PFOA (Midasch et al., 2007). The PFOS concentrations in cord plasma amounted on average to about 60% of the level in maternal plasma; however, PFOA concentrations were higher in cord than maternal plasma. This was also observed in the Canadian samples (Tittlemier et al., 2004). Midasch et al. (2007) discussed the higher cord plasma PFOA concentrations may be due to higher albumin content of cord than maternal blood, since PFOA has a high binding affinity to this protein (Han et al., 2003).

In a nationwide study, the Danish National Birth cohort, 1400 randomly selected women provided blood samples between gestational weeks 4 and 14 (Fei et al., 2007). From a subset of 200 of these mothers another sample was subsequently collected during the second trimester, as well as 50 cord blood samples. The PFOS and PFOA levels decreased with increasing parity and decreasing Body Mass Index. PFOA was highest in age

group <25 years and lowest in age group ≥35 years, but after adjustment for parity the differences were low. Concentrations in cord blood and mother's blood were highly correlated, with lower cord blood levels. Moreover, first and second maternal blood samples were correlated, with lower mean concentrations in the second sampling period.

Exposure of children

Only few scientific data on the internal exposure of children to PFC are available. In the context of an epidemiology study on infectious disease, serum samples of 598 children aged 2–12 years were collected in 1994 and 1995 in the USA (Olsen et al., 2004b). These samples were later analyzed for PFCs, and a median PFOS concentration of 36.7 µg/l (range: 6.7–515 µg/l) and a median PFOA concentration of 5.1 µg/l (range: <1.9–56.1 µg/l) were observed. For PFOA a decrease of the blood levels with age was found. The median as well as the 95% percentile were comparable to that of adults. Only the 95th percentile of PFHxS was higher in children (64 µg/l) in comparison to adults (8–9 µg/L).

For Europe, results are available only from one study of 80 children aged 5–6 years (Hölzer et al., 2008). In the control group of this study in which no known specific exposure occurred, PFOS concentrations of

1.6–26.2 µg/l (median: 4.3 µg/l) and PFOA concentrations of 2.0–11.5 µg/l (median: 4.9 µg/l) were observed. Again, in this study the internal exposure of the children were not increased in comparison to that of adults of the same region.

The first results on PFC levels in newborns were generated from the analysis of 61 blood samples of Hungarian newborns (Fromme et al., 2007d). The samples had been collected in 1996/97 during a nutrition study. The healthy newborns were 3–7 weeks old, weighed 1422–2339 g, and were exclusively breast-fed or bottle-fed when the blood was taken. Concentrations in newborns were 2.5–18.3 µg/l (median 7.3 µg/l) for PFOS and 0.8–16.9 µg/l (median: 3.6 µg/l) for PFOA. Breast-fed infants showed significantly higher PFOS, but not PFOA, concentrations in comparison to infants initially fed with formula.

Age-related exposure

Since PFCs such as PFOS and PFOA are very persistent contaminants that do not undergo metabolism, it might be expected that PFC body burdens would increase with age, as has been observed with other persistent organic compounds (Duarte-Davidson and Jones, 1994). However, most studies that have examined the association of age with PFC concentrations in blood (including plasma and serum) have not observed significant effects. Even in the large NHANES study, in which 54 pooled serum samples of the 2001/2002 survey and 1562 serum samples of the 1999–2000 survey were analyzed, there was no indication for an association of PFC concentrations with age (Calafat et al., 2006a; Calafat et al., 2007). In a small Spanish study, lower concentrations in subjects aged 55 years (± 5 years) in comparison to those aged 25 years (± 5 years) were found for only one of the PFC analytes monitored-PFHxS (Ericson et al., 2007a).

In contrast, the two studies from Germany did find an age-related increase in PFC (Fromme et al., 2007a; Hölzer et al., 2008). In the first investigation this association was found among women only (Fromme et al., 2007a). In the second study, the age of men was positively associated with the levels of PFOS, PFOA, and PFHxS in plasma, and the age of women with PFOA only (Hölzer et al., 2008). An age-related increase was identified in a large US American study with significant lower median PFOS and PFHxS concentrations in individuals younger than 40 years of age (Olsen et al., 2005). In Australia a significant increase of PFOS concentrations with age was found among female subjects (Kärman et al., 2006b). In this investigation, concentrations of PFOA, PFHxS, and PFOSA were higher among adolescents (<16 years old) and among the elderly (>60 years old), while concentrations among subjects of medium age (16–60 years old) were lower.

Time trends of exposure

Currently, the time trend of the internal exposure in the general population has been investigated in some studies (Harada et al., 2004; Olsen et al., 2005, 2007a; Jin et al., 2007; Harada et al., 2007a; Wilhelm et al., 2008b).

The analysis of serum samples collected in Japan in 1983, 1987, 1991, 1995, and 1999 showed a significant increase in PFOA levels, while for PFOS no such increase could be observed (Harada et al., 2007a). In another Japanese study, serum samples collected in 1977, 1991, 1995, and 2003 from Akita and Miyagi regions were analyzed (Harada et al., 2004). In the samples from Miyagi, PFOS and PFOA concentrations increased 3- and 14-fold, respectively, from the years 1977 to 2003. In contrast, only a slight increase was observed for PFOA in samples from Akita for the time period 1991–2003.

Results of a Chinese study that analyzed serum samples from 1987, 1990, 1999, and 2002 also showed a considerable increase in PFOS and PFOA concentrations during this time period (Jin et al., 2007). While concentrations in the year 1987 hardly exceeded the limit of determination (0.01–0.03 µg/l), in 2002 they amounted to 22.4 µg/l (PFOS) and 4.9 µg/l (PFOA), respectively.

An increase in serum levels of PFOS and PFOA from 1974 and 1989 could be observed as well in two American studies (Olsen et al., 2003b; Olsen et al., 2005). As the authors emphasize, these results have to be interpreted with caution, since different analytical methods were employed and different matrices (serum collected in 1974 vs. plasma collected in 1989) were analyzed. Furthermore, preliminary results on 40 serum samples from 2005 and 100 serum samples from 2000 obtained from the same region indicated a reduction of PFOS and PFOA concentration by 40% to 50% (Olsen et al., 2007a).

From the PFC-affected area in the Sauerland, Germany 30 samples of young adults (20–31 years old) from the German Environmental Specimen Bank were analyzed for PFCs (Wilhelm et al., 2008b). The sampling time period covered 1977–2004. PFOA values ranged between 1.7 and 40.7 µg/l (median 6.1 µg/l), PFOS levels were 8.1–150.5 µg/l (median: 18.8 µg/l). Time trend analysis of PFOS and PFOA indicated a slight, but not significant, increase in concentrations from 1977 to about 1990, which was then followed by a decreasing tendency of the values. In contrast, there was a clear linear increase of PFHxS plasma concentrations (median, range: 1.7 µg/l, 0.49–4.6 µg/l) up to 2004.

Studies in other human tissues and body fluids

Human liver that was not suitable for transplantation and blood samples from 31 donors aged 5 to 74 years

were analyzed for various PFCs (Olsen et al., 2003d). PFOS concentrations in the liver ranged between <4.5 and 57 ng/g (mean: 18.8 ng/g) and in the serum between <6.1 and 58.3 µg/L (mean: 17.7 µg/l). If only values above the limit of determination were considered, the mean ratio of liver to blood concentration was 1.4. With respect to PFOA and PFHxS more than 90% of the samples did not contain residues above the limit of determination of the employed analytical method (17.9–35.9 ng/g and 3.4–18.5 ng/g, respectively).

Maestri et al. (2006) analyzed pooled tissue samples of seven deceased subjects aged 12–83 years at time of death. They employed an analytical method with a much higher sensitivity and observed PFOA concentrations of 3.1 ng/g in the liver and 3.0 ng/g in blood. The corresponding concentrations for PFOS were 13.6 ng/g (liver) and 5.1 ng/g (blood). The highest PFOA concentration was detected in lung tissue (3.8 ng/g), which also showed the second highest PFOS level (7.9 ng/g). The lowest concentrations were observed in nerve tissue (0.5 ng PFOA/g and 1.3 ng PFOS/g).

Within a pilot study in Germany, 10 liver samples of deceased subjects were analyzed and a mean PFOS concentration of 17.9 ng/g (range: 1.6–45.4 ng/g) and a mean PFOA concentration of 1.8 ng/g (range: 0.5–3.5 ng/g) were observed (Völkel et al., 2007). PFOS was detected in all samples above the limit of detection; whilst PFOA was detected in all but one sample. All the aforementioned studies obtained fairly similar concentrations of PFCs in liver. Concentrations of PFOA appear to be 10 times lower than concentrations of PFOS.

Very few data are currently available on the distribution of PFCs in other human tissues aside from liver and blood. PFCs were measured in bile and cerebrospinal fluid (CSF) (Harada et al., 2007b). The median concentration in bile was 27.9 µg PFOS/L and 1.0 µg PFOA/l with a serum to bile ratio of 0.60 (PFOS) and 0.21 (PFOA) ($n = 4$). In contrast, concentrations in a small number of CSF samples ($n = 7$) were very low, ranging from <0.04 to 0.07 µg PFOA/l and 0.07 to 0.20 µg PFOS/l. Concentrations in CSF reached on average only 1.8% (PFOA) and 0.9% (PFOS) of concentrations in serum. These data indicate only minor transfer of PFCs via the blood-brain-barrier, which is confirmed by the low concentrations in nerve tissue observed by Maestri et al. (2006).

Specific situations associated with increased exposure of the general population

In the scientific literature two incidents have been reported in which a contamination of drinking water with PFOA caused an increased internal exposure of the population; one occurring in the USA and the other in Germany (Emmett et al., 2006a, b; Hölzer et al., 2008;

Wilhelm et al., 2008a). In the USA, a high contamination has been reported in the catchment area of a water supply in the vicinity of a fluoropolymer production facility in Ohio (Emmett et al., 2006a, b). The PFOA serum concentrations in the non-occupationally exposed general population in this area was high ($n = 371$, median = 354 µg/l), while the concentrations among subjects employed in the PFOA processing plant were higher ($n = 18$, median = 775 µg/l). The blood levels differed depending on the donors' use of water; the highest level was observed in subjects exclusively using water from the central water supply ($n = 291$, median = 374 µg/l). Slightly lower levels were reported for subjects who in addition used bottled water or spring water ($n = 26$, median = 320 µg/l), and levels were considerably lower if subjects used exclusively bottled water, cistern, or spring water ($n = 10$, median = 71 µg/l). No association of the blood PFOA concentrations with alcohol consumption, smoking, or consumption of meat or fish was found. However, an increasing number of meals prepared with locally grown vegetables or fruits was significantly associated with increasing blood PFOA concentrations. The authors conclude that drinking water is the major route of exposure for this population, while exposure through air can be neglected.

In Germany, in a region in North Rhine-Westphalia, PFC-contaminated inorganic and organic waste material was applied on a large agricultural area. Subsequently, increased PFOA concentrations were found in surface water as well as in drinking water (Wilhelm et al., 2008a). In a cross-sectional study, the internal exposure in 170 children and 521 adults living in the affected area and a control area was determined (Hölzer et al., 2008). The ratio of the geometric means of PFOA concentrations in the populations residing in the affected and control areas were 4.6 for children, 4.4 for male adults, and 8.3 for female adults. In addition, PFHxS concentrations in plasma (geometric means) were 53% (children), 14% (male adults), and 80% (female adults) higher in the affected region as compared to the control region. It was shown that the estimated consumption of drinking water was significantly associated with the plasma PFOA concentrations.

Breast milk

The mechanism by which perfluorinated substances are transferred from mother's blood to breast milk is not clear. But it is well known that PFCs are strongly bound to the protein fraction in blood (Han et al., 2003). The possibility of PFCs entering the milk and accumulating to levels observed in maternal plasma is therefore limited.

260

H. Fromme et al. / Int. J. Hyg. Environ. Health 212 (2009) 239–270

Up to now, PFOS and PFOA levels during lactation have been studied in two animal studies (Kuklenyik et al., 2004; Hinderliter et al., 2005). Testing an analytical method, Kuklenyik et al. (2004) measured PFCs in archived milk and serum samples of Sprague-Dawley rats collected at lactation day 14. In this experiment PFOS was administered by gavage (dose not available). In the two treated animals serum (and milk) concentrations were 196,000 µg/l (100,000 µg/l) and 116,000 µg/l (13,700 µg/l), respectively. PFOS was not detected (<0.5 µg/l) in any of the milk samples from the 8 control animals, whereas the mean concentration in the corresponding serum samples was 80 µg/l.

In another study, Hinderliter et al. (2005) dosed 20 time-mated rats by oral gavage once daily at concentrations of 3, 10, 30 mg ammonium PFOA salt/kg_{body weight} starting on gestation day 4 until sacrifice. They found that the mean PFOA concentrations in milk were 1070, 2820, and 6160 µg/l at the three dose levels, respectively. The steady state concentrations in milk were approximately 10 times less than those in maternal plasma. Furthermore, the milk levels appeared to be generally comparable to the concentrations in pup plasma.

Concentrations of PFCs in human milk have been examined in a handful of studies, and the results are summarized in Table 8. In the first study, aimed to develop a reliable analytical method, two human milk samples were analyzed (Kuklenyik et al., 2004). PFOS

and PFOA were not found (limit of detection: <0.30 and <0.2 µg/l). Only perfluoropentanoic acid (1.56 µg/l) in one of the samples and perfluorohexanoic acid (0.82 µg/l) in the second could be quantified.

Kärman et al. (2007a) collected milk samples from 12 primiparous women during the third week after delivery in Sweden in 2004. While PFOS could be detected in all 12 milk samples with values ranging between 0.06 and 0.47 µg/l, PFOA could be quantified in one sample only, due to relatively high blank levels. PFHxS ranged from 0.03 to 0.17 µg/l and PFOSA was detected in 8 of 12 samples from LOD to 0.03 µg/l. PFNA was detected less frequently, in only 2 samples. PFUnDA was not detected at all. The PFOS milk level was on average 1% of the corresponding serum level, with a strong positive association between serum and milk levels (PFOS, $R^2 = 0.7$; PFHxS, $R^2 = 0.8$).

In another study, So et al. (2006) reported results of a Chinese study that included 19 primiparous volunteers recruited in 2004. The concentrations of PFOS and PFOA ranged from 0.05 to 0.36 µg/l and from 0.05 to 0.21 µg/l, respectively. The other PFCs were found in minor amounts only. For example, the maximum concentrations of longer chain PFCAs were all less than 0.1 ng/l – PFNA (0.06 µg/l), PFDA (0.02 µg/l), and PFUnDA (0.06 µg/l).

Nakata et al. (2007) analyzed the milk of 51 healthy Japanese mothers and observed PFOS and PFOA

Table 8. Median (range) concentration of perfluorinated substances in breast milk (values in squared brackets represents percentage of values > limit of detection)

PFOS (µg/l)	PFOA (µg/l)	PFHxS (µg/l)	Number of samples analyzed	Year of sampling	Donor location
<i>So et al. (2006)</i>					
0.10 (0.05–0.36) [100%]	0.11 (0.05–0.21) [100%]	0.01 (0.004–0.10) [100%]	19	2004	China
<i>Kärman et al. (2007a)</i>					
0.17 (0.06–0.47) [100%]	(a)	0.07 (0.03–0.17) [100%]	12	2004	Sweden
<i>Völkel et al. (2008)</i>					
0.12 (0.03–0.31) [100%]	(<0.20–0.29) [11%]	–	57	2006	Bavaria, Germany
<i>Bernsmann and Fürst (2008)</i>					
0.08 (0.05–0.28) [66%]	0.14 (0.08–0.61) [54%]	(b)	183	2007	North Rhine-Westphalia, Germany
<i>Nakata et al. (2007)</i>					
0.01–0.40 [100%]	<LOD–0.34 [44%]	<LOD–0.03 [64%]	51		Japan

^aOnly one sample >0.01 (limit of detection), all other 11 samples with high background values.

^bOnly 2 positive samples (0.16 and 0.18 µg/l), all others <LOD.

concentrations of 0.01–0.40 µg/l and <LOD–0.34 µg/l, respectively. PFNA could be observed from <LOD to 0.15 µg/l and PFHxS from <LOD to 0.03 µg/l.

Völkel et al. (2008) reported results from breast milk samples collected in Germany (57 samples) and 13 archived samples from Hungary. The PFOS concentration in samples from Germany ranged from 0.03 µg/l to 0.31 µg/l, while the samples from Hungary showed significantly higher PFOS concentrations (median 0.33 µg/l, range 0.10–0.64 µg/l). In only 11 of 70 samples PFOA reached the limit of quantification of 0.2 µg/l; values ranged from 0.20 to 0.46 µg/l.

In a further investigation from Germany, Bernsmann and Fürst (2008) measured PFCs in 183 samples from North Rhine-Westphalia. The most frequently detected compounds were PFOS and PFOA, which could be detected in 99 and 120 samples, respectively. The concentrations of samples above limit of detection ranged from <0.01 to 0.28 µg/l (PFOS) and 0.03 to 0.39 µg/l (PFOA). PFHxS was detected only in 2 samples at concentrations of 0.16 and 0.18 µg/l.

Overall exposure assessment for adults

The widespread exposure of children and adults all over the world to PFCs suggests that the observed human body burdens are due to a ubiquitous source. With regard to the chemical and physical properties of PFCs, there are different possible routes for the assimilation of PFCs into the body. One set of routes is direct exposure to these substances via inhalation of air, ingestion of house dust, drinking water and food. With regard to the latter, we have to keep in mind that PFCs could be transferred to food during storage (from food packaging), preparation and bioaccumulation of PFCs via the food chain. Furthermore, a probable route of PFC exposure includes the intake of various precursors, which have been detected mainly in the gas phase of indoor and outdoor air and in some food products, potentially after migration from food packaging. In addition, some precursors are metabolized in the body to their final persistent products, such as PFOS.

Exposure to PFOS and PFOA

Considering the potential routes of human exposure to PFOS and PFOA mentioned above, we estimated the overall mean and high daily intake for a non-occupationally exposed adult population (summarized in Table 9). Mean intake calculations were based on mean or median concentrations; high intake calculations were based on upper percentile or maximum concentrations. It was assumed that absorption from the gastrointestinal tract and lungs was 100%.

Exposure via inhalation was estimated using the average of the mean daily inhalation values of females and males (13.3 m³/day) (US EPA, 1997). For further calculation it was assumed that people generally spend 90% of the day in indoor environments. On this basis, outdoor exposure was estimated using median and maximum values from the winter and spring measurements of PFOS and PFOA in ambient air of 6 European measurement sites (Barber et al. 2007). Indoor air exposure was derived from Barber et al. (2007) using half of the limit of detection (PFOS) and mean value (PFOA) of 4 measurements carried out in Tromsø, Norway.

Exposure via non-dietary ingestion was estimated using median and maximum values measured in house dust of 67 Canadian homes (Kubwabo et al., 2005) combined with an average adult intake rate of 50 mg dust/day (US EPA, 1997), mean values and maximum values detected 2006 in drinking water samples from 14 German cities, Paris and Hampshire (UK) (Skutlarek et al., 2006) combined with adult median drinking water intake rate of 1.3 l/day (US EPA, 1997).

The dietary intake was estimated based on median and 95th percentile intake rates from a duplicate diet study in Germany (Fromme et al., 2007c), which is in accordance with data published previously from a total diet study in Canada (Tittlemier et al., 2007).

Based on these assumptions we can estimate a mean (and high) comprehensive daily intake of 1.6 ng/kg_{body weight} (8.8 ng/kg_{body weight}) for PFOS and 2.9 ng/kg_{body weight} (12.6 ng/kg_{body weight}) for PFOA, respectively.

As seen from Table 9 we can cautiously conclude that dietary exposure is the dominant intake pathway, responsible for 91% (PFOS) and 99% (PFOA) of the total intake of the general population using mean intake data. These results are in accordance with previously published findings. A simple one compartment toxicokinetic model showed that the dietary intake corresponds well with the plasma level of the same population (Fromme et al., 2007c).

Exposure to FOSE/FOSA and FTOH

Considering the potential routes of human exposure mentioned above, we estimated the overall mean and high daily intake for a non-occupationally exposed adult population (summarized in Table 10) to potential precursors of PFCAs and PFAS.

Outdoor exposure was estimated using median and maximum values of the sum of FTOHs and FOSAs/FOSEs analyzed from 7 air samples in Hamburg, Germany (Jahnke et al., 2007b). Indoor air exposure was derived from Barber et al. (2007) using median and maximum values of the sum of FTOHs from 4 indoor samples from Tromsø, Norway (Barber et al., 2007).

262

H. Fromme et al. / Int. J. Hyg. Environ. Health 212 (2009) 239–270

Table 9. Estimated adult daily intake of PFOS and PFOA for the general population. Mean intake based on mean or median concentrations; high intake based on upper percentile or maximum concentrations

	Concentration		Intake rate ^a	Intake (ng/day)		Daily intake pg/kg b.w. ^b	
	Mean	High		Mean	High	Mean	High
<i>PFOA</i>							
Indoor air	4.4 pg/m ³ ^c		12 m ³ /day	0.053	0.053	0.9	0.9
Outdoor air	58.4 pg/m ³ ^d	552 pg/m ³ ^d	1.3 m ³ /day	0.076	0.718	1.3	12.0
House dust	19.72 ng/g ^e	1234 ng/g ^e	50 mg/day	0.986	61.7	16.4	1028.3
Diet				169 ^h	689 ^h	2816.7	11483.3
Drinking water	1.0 ng/l ^f	4.0 ng/l ^f	1.3 l/day	1.3	5.2	21.7	86.7
Overall intake						2857.0	12611.2
<i>PFOS</i>							
Indoor air	23.7 pg/m ³ ^g		12 m ³ /day	0.284	0.284	4.7	4.7
Outdoor air	4.5 pg/m ³ ^d	46 pg/m ³ ^d	1.3 m ³ /day	0.006	0.060	0.1	1.0
House dust	37.8 ng/g ^e	5065 ng/g ^e	50 mg/day	1.9	253	31.7	4216.7
Diet				90 ^h	269 ^h	1500.0	4483.3
Drinking water	1.0 ^f	6.0 ^f	1.3 l/day	1.4	7.8	23.3	130.0
Overall intake						1559.8	8835.7

^aUS EPA (1997).^bAdult 60 kg.^cMean of four indoor samples from one location (Barber et al., 2007).^dMedian and maximum of means from 6 measurement sites (Barber et al., 2007).^eMedian and maximum values (Kubwabo et al., 2005).^fMean and maximum values (Skutlarek et al., 2006a).^g0.5 of the detection limit (Barber et al., 2007).^hMedian and 95th percentile (Fromme et al., 2007c).

Indoor air exposure to FOSAs/FOSEs was calculated using geometric mean concentration from 59 randomly selected homes of Ottawa, Canada (Shoeib et al., 2005a). For calculation of the high intake the 90th percentile of the estimated human exposure by inhalation was used from the same paper.

Mean exposure via non-dietary ingestion was estimated using geometric means of the sum of FTOHs and FOSAs/FOSEs measured in house dust of 66 Canadian homes (Shoeib et al., 2005a,b). The 95th percentile of dust exposure of adults was used to determine high intake levels (Shoeib et al., 2005b).

The dietary intake of FOSAs/FOSEs were calculated using median and 90th percentile intake rates for adults aged 40–64 years observed in a Canadian TDS (Tittlemier et al., 2006).

The overall mean (and high) daily intake level was of 0.14 ng/kg_{body weight} (1.1 ng/kg_{body weight}) for FTOHs and 1.6 ng/kg_{body weight} (11.0 ng/kg_{body weight}) for FOSAs/FOSEs, respectively.

Contribution of FTOHs and FOSAs/FOSEs to PFOA and PFOS exposure

There is growing evidence that numerous polyfluorinated substances undergo metabolic processes and can

be converted in living organisms to PFOS and PFOA. As a result, their contribution to PFOS and PFOA exposure can be estimated by quantifying the amount of these precursor substances entering an organism. Nevertheless, we have to keep in mind that toxicokinetic data of these substances are limited and are missing for the inhalation pathway, which may be important for more volatile PFCs.

Dosing 8:2 FTOH by gavage to rats Fasano et al. (2006) estimated the total systemic absorption to be 49% and 57% at lower and 27% and 27% at higher doses for males and females, respectively. As seen before from the environmental degradation studies, the in vitro experiments with rat hepatocytes suggest that PFOA was not the main product of metabolism, since only 1.4% of 8:2 FTOH was converted to PFOA. Furthermore, Nabb et al. (2007) concluded that human hepatocytes produced 22-fold less PFOA compared to hepatocytes of mice and 9.5-fold less PFOA compared to hepatocytes of rats.

Early toxicological study demonstrated similar qualitative effects of *N*-EtFOSE and PFOS, leading to the hypothesis that the toxicity of the *N*-EtFOSE is primarily due to the conversion to its final metabolite PFOS (Butenhoff and Seacat, 2001). Manning et al. (1991) administered a single bolus of 50 mg radiolabeled *N*-EtFOSE to rats by gavage. The substance was slowly

Table 10. Estimated adult daily intake of FOSEs/FOSAs and FTOHs for the general population. Mean intake based on mean or median concentrations; high intake based on upper percentile or maximum concentrations

	Concentration		Intake rate ^a	Intake (ng/day)		Daily intake pg/kg b.w. ^b	
	Mean	High		Mean	High	Mean	High
$\sum FTOH$							
Indoor air	190 pg/m ³ ^c	527 pg/m ³ ^c	12 m ³ /day	2.28	6.32	38.0	105.0
Outdoor air	139 pg/m ³ ^d	149 pg/m ³ ^d	1.3 m ³ /day	0.18	0.19	3.0	3.2
House dust	123 ng/g ^e		50 mg/day	6.15	61 ^h	102.5	1016.7
Total intake						143.5	1124.9
$\sum FOSE/FOSA$							
Indoor air	2303 pg/m ³ ^f		12 m ³ /day	27.6	123 ⁱ	460.0	2050.0
Outdoor air	49.6 pg/m ³ ^g	531 pg/m ³ ^g	1.3 m ³ /day	0.064	0.69	1.1	11.5
House dust	259 ng/g ^f		50 mg/day	13.0	122 ^h	983.3	2033.3
Diet				59 ^j	280 ^j	216.7	6866.7
Total intake						1661.1	10961.7

^aUS EPA (1997).^bAdult 60 kg.^cMedian and maximum of sum of 4:2FTOH, 6:2FTOH, 8:2FTOH, and 10:2FTOH (Barber et al., 2007).^dMedian and maximum of sum of 4:2FTOH, 6:2FTOH, 8:2FTOH, and 10:2FTOH (Jahnke et al., 2007a).^eGeometric mean of sum of 6:2FTOH, 8:2FTOH, and 10:2FTOH (Shoeib et al., 2005b).^fGeometric mean of sum of *N*-EtFOSE, *N*-MeFOSE, *N*-EtFOSA, and *N*-MeFOSA (Shoeib et al., 2005a).^gMedian and maximum of sum of *N*-EtFOSE, *N*-MeFOSE, *N*-EtFOSA, and *N*-MeFOSA (Jahnke et al., 2007a).^hIntake (95th percentile) derived from Shoeib et al. (2005b).ⁱIntake (90th percentile) derived from Shoeib et al. (2005a).^jMedian and 90th percentile of sum of *N*-EtFOSA, *N*-MeFOSA, *N,N*-Et₂FOSA, *N,N*-Me₂FOSA, and PFOSA (Tittlemier et al., 2006).

absorbed from the gastro-intestinal tract and approximately 80% of the administered dose was recovered. The findings of the study indicate that *N*-EtFOSE is quickly and extensively metabolized to PFOSA with an elimination half-life of 16–20 h. In a second study Grossman et al. (1992) fed rats with a mean daily dose of 6.6 *N*-EtFOSA mg/kg_{body weight} over a period of 56 days. They observed no detectable levels in blood samples, but its metabolite PFOSA, was present. The blood half-life of *N*-EtFOSA was expected to be 10.8 days with no tendency of the compounds to accumulate in adipose tissue.

In two studies Xu et al. (2004, 2006) elucidate the pathways for biotransformation of *N*-EtFOSE in vitro, and identify and characterize the enzymes catalyzing these processes. They observed that PFOSA is the major metabolite of *N*-alkylperfluorosulfonamides. As a major metabolic pathway PFOSA was subsequently transformed to PFOSA *N*-glucuronide, and to a lower extent, to the metabolically inert PFOS. The *N*-glucuronidation of PFOSA appears to be species dependent with higher *N*-glucuronosyltransferase activities in pooled liver microsomes from humans compared to other species studied. Overall, they concluded that PFOS is formed from PFOSA, but at a comparatively low rate.

Therefore, as a conservative estimate we assumed for further calculation that 5% of the FTOHs and 20% of the FOSAs/FOSEs were converted in the human body

to PFOA and PFOS. It has to be noted that there are significant uncertainties using in vitro data or data observed from studies with rodents to predict rates of metabolism in humans. Using this somewhat rough approach and the intake data from Table 10 we can conclude that FTOHs have only a negligible contribution (<1%) on the total mean and high PFOA exposure of adults. Moreover, the contribution of the converted FOSAs/FOSEs to total PFOS exposure of the general population only reaches 10%.

Certainly, this somewhat preliminary estimation has various limitations. First of all, the database is very limited. Our knowledge of the occurrence and behavior of PFCs, especially in indoor air, ambient air and house dust needs to be expanded. Secondly, using the intake values from the UK TDS (FSA, 2006) the dietary intake was clearly higher than the estimates from the Canadian and German study (see Table 4). Furthermore, there are only limited data with regard to the dietary intake of other PFCs than PFOS and PFOA. Moreover, it should be noted that for some subsets of the population a higher exposure could be observed due to environmental contamination (Hölzer et al., 2008), or residence near a fluoropolymer production facility (Emmett et al., 2006a, b). Consumption of higher contaminated fish results under some circumstances and in some regions (e.g. Baltic Sea, Great Lakes) in higher intakes and body burdens of perfluorocarboxylates and sulfonates

(Falandysz et al., 2006). In addition, the significance of trace levels of PFCs in certain consumer articles is not clear yet, but it seems that the contribution to total exposure is quite low. For example Washburn et al. (2005) modeled the potential exposures during consumer use of articles containing PFOA. They estimated a hypothetical annual average intake as reasonable maximum aggregate exposure (RME) of an adult resident at approximately 2.2 ng PFOA/kg_{body weight} from clothing and carpet. For the more typical exposure scenarios intake estimates were generally 1–2 orders of magnitude lower than the corresponding RME intakes.

Conclusion

For risk assessment purposes our exposure estimates could be compared to tolerable lifetime intake levels at which no appreciable health risks would be expected over a lifetime. Beyond this we compared our data to the tolerable daily intakes (TDI) recommended by scientific institutions.

A recent evaluation of PFOS was performed by the UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (COT, 2006a, b). For PFOS, the COT recommended a TDI of 300 ng/kg_{body weight}. For PFOA, a TDI of 3000 ng/kg_{body weight} was established. Furthermore, the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR, 2006) and the Drinking Water Commission of the German Ministry of Health (DWC, 2006) derived a provisional TDI of 100 ng/kg_{body weight} for both PFOS and PFOA.

The total estimated average (and high) daily intakes of an adult population calculated above are in the low ng/kg_{body weight} range; PFOS and PFOA estimated daily intakes are 1.6 ng/kg_{body weight} (8.8 ng/kg_{body weight}) and 2.9 ng/kg_{body weight} (12.6 ng/kg_{body weight}), respectively. The total estimated intake of PFOS and PFOA are well below the lowest recommended TDI values of 100 ng/kg_{body weight}.

In this paper we do not specifically estimate the exposure of children. It is obvious from biomonitoring data that the internal exposure of children is comparable to that of adults, but results are only based on a few studies (Olsen et al., 2004b; Hölzer et al., 2008; Fromme et al., 2007d). Overall, the exposure situation of children is not well understood, and therefore we cannot confidently make any statements on the risks of childrens' exposure to PFCs using the data currently available.

Acknowledgment

We greatly thank Martin Schlummer and Jan Ungewiß (Fraunhofer-Institute for Process Engineering

and Packaging, Freising, Germany) and Annika Jahnke (Department of Applied Environmental Sciences ITM, Stockholm, Sweden) for their important support.

References

- Andersen, M.E., Butenhoff, J.L., Chang, S.C., Farrar, D.G., Kennedy, G.L., Lau, C., Olsen, G.W., Seed, J., Wallace, K.B., 2008. Perfluoroalkyl acids and related chemistries – toxicokinetics and modes of action. *Toxicol. Sci.* 102, 3–14.
- Apelberg, B.J., Goldman, L.R., Calafat, A.M., Herbstman, J.B., Kuklenyik, Z., Heidler, J., Needham, L.L., Halden, R.U., Witter, F.R., 2007. Determinants of fetal exposure to polyfluoroalkyl compounds in Baltimore, Maryland. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3891–3897.
- Barber, J.L., Berger, U., Chaemfa, C., Huber, S., Jahnke, A., Temme, C., Jones, K., 2007. Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in air samples from Northwest Europe. *J. Environ. Monit.* 9, 530–541.
- Barton, C.A., Butler, L.E., Zarzecki, C.J., Flaherty, J., Kaiser, M., 2006. Characterizing perfluorooctanoate in ambient air near the fence line of a manufacturing facility: comparing modeled and monitored values. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 56, 48–55.
- Begley, T.H., White, K., Honigfort, P., Twaroski, M.L., Neches, R., Walker, R.A., 2005. Perfluorochemicals: potential sources of and migration from food packing. *Food Add. Contam.* 22, 1023–1031.
- Bernsmann, T., Fürst, P., 2008. Determination of perfluorinated compounds in human milk. Prepared for DIOXIN 2008, *Organohalogen Compounds* 70, 718–721.
- BfR (German Federal Institut for Risk Assessment), 2006. High levels of perfluorinated organic surfactants in fish are likely to be harmful to human health Statement No. 21/2006, 28 July 2006 <<http://www.bfr.bund.de/cd/8172>> [accessed 4 January 2008].
- Boulanger, B., Peck, A.M., Schnoor, J.L., Hornbuckle, K.C., 2005. Mass budget of perfluorooctane surfactants in Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 39, 74–79.
- Butenhoff, J.L., Seacat, A.M., 2001. Comparative sub-chronic toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and *N*-ethyl perfluorooctanesulfonamidoethanol (*N*-EtFOSE) in the rat. *Toxicol. Sci.* 60 (Suppl. 1), 348 (abstract 1655).
- Calafat, A.M., Kuklenyik, Z., Caudill, S.P., Reidy, J.A., Needham, L.L., 2006a. Perfluorochemicals in pooled serum samples from the United States residents in 2001 and 2002. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2128–2134.
- Calafat, A.M., Needham, L.L., Kuklenyik, Z., Reidy, J.A., Tully, J.S., Aguilar-Villalobos, M., Naeher, L.P., 2006b. Perfluorinated chemicals in selected residents of the American continent. *Chemosphere* 63, 490–496.
- Calafat, A.M., Kuklenyik, Z., Reidy, J.A., Caudill, S.P., Tully, J.S., Needham, L.L., 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.
- Corsolini, S., Kannan, K., 2004. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in several organisms including humans from Italy. *Organohalogen Compd.* 66, 4079–4085.

- COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and The Environment), 2006a. COT statement on the tolerable daily intake for perfluorooctanoic acid <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/cotstatementpfoa200610.pdf>> [accessed 4 January 2008].
- COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and The Environment), 2006b. COT statement on the tolerable daily intake for perfluorooctane sulfonate <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/cotstatementpfos200609.pdf>> [accessed 4 January 2008].
- D'eon, J.C., Mabury, S.A., 2007. Production of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) from the biotransformation of perfluoroalkyl phosphate surfactants (PAPS): exploring routes of human contamination. *Environ. Sci. Technol.* 41, 4799–4805.
- De Silva, A.O., Mabury, S.A., 2006. Isomer distribution of perfluorocarboxylates in human blood: potential correlation to source. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2903–2909.
- Dinglasan, M.J., Yeh, Y., Edwards, E.A., Mabury, S.A., 2004. Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2857–2864.
- Duarte-Davidson, R., Jones, K.C., 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the UK population: estimated intake, exposure and body burden. *Sci. Total Environ.* 151, 131–152.
- DWC (Drinking Water Commission), 2006. Provisional evaluation of PFT in drinking water with the guide substances perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) as examples <<http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-presse-e/hintergrund/pft-in-drinking-water.pdf>> [accessed 4 January 2008].
- Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Olsen, G.W., Chang, S.-C., Butenhoff, J.L., 2007. Comparison of human whole blood, plasma, and serum matrices for the determination of perfluorooctanesulfonate (PFOA), and other fluorochemicals. *Environ. Res.* 103, 176–184.
- Ellis, D.A., Martin, J.W., De Silva, A.O., Mabury, S.A., Hurley, M.D., Sulbaek Andersen, M.P., Wallington, T.J., 2004. Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ. Sci. Technol.* 15, 3316–3321.
- Emmett, E.A., Shofer, F.S., Zhang, H., Freeman, D., Desai, C., Shaw, L.M., 2006a. Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources. *J. Occup. Environ. Med.* 48, 759–770.
- Emmett, E.A., Zhang, H., Shofer, F.S., Freeman, D., Rodway, N.V., Desai, C., Shaw, L.M., 2006b. Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum levels and certain health parameters. *J. Occup. Environ. Med.* 48, 771–779.
- Ericson, I., Gomez, M., Nadal, M., van Bavel, B., Lindstrom, G., Domingo, J.L., 2007. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environ. Int.* 33, 616–623.
- Ericson, I., Marti-Cid, R., Nadal, M., van Bavel, B., Lindstrom, G., Domingo, J.L., 2008. Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1787–1794.
- EU (European Union), 2006. Directive 2006/122/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006. Official Journal of the European Union, L/372/32–34, 27.12.2006.
- Ewers, U., Krause, C., Schulz, C., Wilhelm, M., 1999. Reference values and human biological monitoring values for environmental toxins. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 72, 255–260.
- Falandysz, J., Taniyasu, S., Gulkowska, A., Yamashita, N., Schulte-Oehlmann, U., 2006. Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic coast. *Environ. Sci. Technol.* 40, 748–751.
- Fasano, W.J., Carpenter, S.C., Gannon, S.A., Snow, T.A., Stadler, J.C., Kennedy, G.L., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., Hinderliter, P.M., Kemper, R.A., 2006. Absorption, distribution, metabolism, and elimination of 8-2 fluorotelomer alcohol in the rat. *Toxicol. Sci.* 91, 341–355.
- Fei, C., McLaughlin, J.K., Tarone, R.E., 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., 2007a. Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 80, 313–319.
- Fromme, H., Albrecht, M., Angerer, J., Drexler, H., Gruber, L., Schlummer, M., Parlar, H., Körner, W., Wanner, A., Heitmann, D., Roscher, E., Bolte, G., 2007b. Integrated Exposure Assessment Survey (INES). Exposure to persistent and bioaccumulative chemicals in Bavaria, Germany. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 345–349.
- Fromme, H., Schlummer, M., Möller, A., Gruber, L., Wolz, G., Ungewiß, J., Böhmer, S., Dekant, W., Mayer, R., Liebl, B., Twardella, D., 2007c. Exposure of an adult population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7928–7933.
- Fromme, H., Völkel, W., Genzel-Boroviczény, O., Demmelmaier, H., Gebauer, C., Koletzko, B., Raab, U., Twardella, D., 2007d. Internal exposure of newborns to perfluorinated substances and estimation of relevant intake pathways [in German, abstract]. *Umwelt. Forsch. Prax.* 12, 319.
- Fromme, H., Nitschke, L., Kiranoglu, M., Albrecht, M., Völkel, W., 2008. Perfluorinated substances in house dust in Bavaria, Germany. Prepared for DIOXIN 2008, Organohalogen Compounds 70, 1048–1050.
- FSA (Food Standards Agency), 2006. Fluorinated chemicals: UK dietary intakes. Food Survey Information Sheet 11/06, London, UK.
- Giesy, J.P., Kannan, K., 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.
- Government of Canada, 2006. Perfluorooctane sulfonate and its salts and certain other compounds regulations. *Can. Gazette Pt. 1* 140 (50), 4265–4284.
- Grossman, M.R., Mispagel, M.E., Bowen, J.M., 1992. Distribution and tissue elimination in rats during and after prolonged dietary exposure to a highly fluorinated sulfonamide pesticide. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2505–2509.

- Gruber, L., Schlummer, M., Ungewiss, J., Wolz, G., Moeller, A., Weise, N., Sengl, M., Frey, S., Gerst, M., Schwaiger, J., 2007. Tissue distribution of perfluorooctansulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in fish. *Organohalogen Compd.* 69, 3.
- Gulkowska, A., Jiang, Q., So, M.A., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Yamashita, N., 2006. Persistent perfluorinated acids in seafood collected from two cities of China. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3736–3741.
- Guruge, K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Wijeratna, S., Mohotti, K.M., Seneviratne, H.R., Kannan, K., Yamana, N., Miyazaki, S., 2005. Perfluorinated organic compounds in human blood serum and seminal plasma: a study of urban and rural tea worker population in Sri Lanka. *J. Environ. Monit.* 7, 371–377.
- Han, X., Snow, T.A., Kemper, R.A., Jepson, G.W., 2003. Binding of perfluorooctanoic acid to rat and human plasma proteins. *Chem. Res. Toxicol.* 16, 775–781.
- Hansen, K.J., Clemen, L.A., Ellefson, M.E., Johnson, H.O., 2001. Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environ. Sci. Technol.* 35, 766–770.
- Harada, K., Saito, N., Sasaki, K., Inoue, K., Koizumi, A., 2003. Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: estimated effects on resident serum levels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71, 31–36.
- Harada, K., Saito, N., Inoue, K., Yoshinaga, T., Watanabe, T., Sasaki, S., Kamiyama, S., Koizumi, A., 2004. The influence of time, sex and geographical factors on levels of perfluorooctane sulfonate in human serum over the last 25 years. *J. Occup. Health* 46, 141–147.
- Harada, K., Nakanishi, S., Saito, N., Tsutsui, T., Koizumi, A., 2005a. Airborne perfluorooctanoate may be a substantial source contamination in Kyoto area, Japan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 74, 64–69.
- Harada, K., Inoue, K., Morikawa, A., Yoshinaga, T., Saito, N., Koizumi, A., 2005b. Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ. Res.* 99, 253–261.
- Harada, K., Nakanishi, S., Sasaki, K., Furuyama, K., Nakayama, S., Saito, N., Yamakawa, K., Koizumi, A., 2006. Particle size distribution and respiratory deposition estimates of airborne perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate in Kyoto area, Japan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76, 306–310.
- Harada, K., Koizumi, A., Saito, N., Inoue, K., Yoshinaga, T., Date, C., Fujii, S., Hachiya, N., Hirokawa, I., Koda, S., Kusaka, Y., Murata, K., Omae, K., Shimbo, S., Takenaka, K., Takeshita, T., Todoriki, H., Wada, Y., Watanabe, T., Ikeda, M., 2007a. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere* 66, 293–301.
- Harada, K.H., Hashida, S., Kaneko, T., Takenaka, K., Minata, M., Inoue, K., Saito, N., Koizumi, A., 2007b. Biliary excretion and cerebrospinal fluid partition of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in humans. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 24, 134–139.
- Hekster, F.M., Laane, R.W., de Voogt, P., 2003. Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 179, 99–121.
- Henderson, W.M., Smith, M.A., 2007. Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorononanoic acid (PFNA) in fetal and neonatal mice following in utero exposure to 8-2 fluorotelomer alcohol (FTOH). *Toxicol. Sci.* 95, 462–473.
- Hinderliter, P.M., Mylchreest, E., Gannon, S.A., Butenhoff, J.L., Kennedy, G.L., 2005. Perfluorooctanoate: placental and lactational transport pharmacokinetics in rats. *Toxicology* 211, 139–148.
- 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.
- Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., Uno, A., Saijo, Y., Sata, F., Yoshimura, Y., Kishi, R., Nakazawa, H., 2004a. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 112, 1204–1207.
- Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kawaguchi, M., Okanouchi, N., Nakazawa, H., 2004b. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography–electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J. Chromatogr. B* 810, 49–56.
- Jahnke, A., Huber, S., Temme, C., Kylin, H., Berger, U., 2007a. Development and application of a simplified method for volatile polyfluorinated alkyl substances in indoor and environmental air. *J. Chromatogr. A* 1164, 1–9.
- Jahnke, A., Ahrens, L., Ebinghaus, R., Temme, C., 2007b. Urban versus remote air concentrations of fluorotelomer alcohols and other perfluorinated alkyl substances in Germany. *Environ. Sci. Technol.* 41, 745–752.
- Jahnke, A., Berger, U., Ebinghaus, R., Temme, C., 2007c. Latitudinal gradient of airborne polyfluorinated alkyl substances in the marine atmosphere between Germany and South Africa (53°N–33°S). *Environ. Sci. Technol.* 41, 3055–3061.
- Jin, Y., Saito, N., Harada, K.H., Inoue, K., Koizumi, A., 2007. Historical trends in human serum levels of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulphate in Shenyang, China. *Tohoku J. Exp. Med.* 212, 63–70.
- 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., 2006a. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere* 64, 1582–1591.
- Kärman, A., Mueller, J.F., van Bavel, B., Harden, F., Toms, L.-M., Lindström, G., 2006b. Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum, collected 2002–2003, in relation to age, gender, and region. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3742–3748.

- Kärman, A., Ericson, I., van Bavel, B., Darnerud, P.O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S., Lindström, G., 2007a. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation – levels of matched human milk and serum and temporal trend, 1996–2004, in Sweden. *Environ. Health Perspect.* 115, 226–230.
- Kärman, A., Langlois, I., van Bavel, B., Lindström, G., Oehme, M., 2007b. Identification and pattern of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in human serum and plasma. *Environ. Int.* 33, 782–788.
- Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, K., Kumar, K.S., Loganathan, B.G., Mohd, M.A., Olivero, J., Van Wouwe, N., Yang, J.H., Aldous, K.M., 2004. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4489–4495.
- Kannan, K., Tao, L., Sinclair, E., Pastva, S.D., Jude, D.J., Giesy, J.P., 2005. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lake food chain. *Arch. Environ. Toxicol.* 48, 559–566.
- Kennedy, G.L., Butenhoff, J.L., Olsen, G.W., O'Connor, J.C., Seacat, A.M., Perkins, R.G., Biegel, L.B., Murphy, S.R., Farrar, D.G., 2004. The toxicology of perfluorooctanoate. *Crit. Rev. Toxicol.* 34, 351–384.
- Kim, S-K., Kannan, K., 2007. Perfluorinated acids in air, rain, snow, surface runoff, and lakes: relative importance of pathways to contamination of urban lakes. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8328–8334.
- Kissa, E., 2001. *Fluorinated Surfactants and Repellents*, second ed. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA, pp. 1–615.
- Kubwabo, C., Vais, N., Benoit, F.M., 2004. A pilot study on the determination of perfluorooctanesulfonate and other perfluorinated compound in blood of Canadians. *J. Environ. Monit.* 6, 540–545.
- 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. Monit.* 7, 1074–1076.
- Kudo, N., Kawashima, Y., 2003. Toxicity and toxicokinetics of perfluorooctanoic acid in humans and animals. *J. Toxicol. Sci.* 28, 49–57.
- Kudo, N., Iwase, Y., Okayachi, H., Yamakawa, Y., Kawashima, Y., 2005. Induction of hepatic peroxisome proliferation by 8-2 telomer alcohol feeding in mice: formation of perfluorooctanoic acid in the liver. *Toxicol. Sci.* 86, 231–238.
- Kuklenyik, Z., Reich, J.A., Tully, J.S., Needham, L.L., Calafat, A.M., 2004. Automated solid-phase extraction and measurement of perfluorinated organic acids and amides in human serum and milk. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3698–3704.
- Langlois, I., Oehme, M., 2006. Structural identification of isomers present in technical perfluorooctane sulfonate by tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 844–850.
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., 2007. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol. Sci.* 99, 366–394.
- Lehmle, H.-J., 2005. Synthesis of environmentally relevant fluorinated surfactants – a review. *Chemosphere* 58, 1471–1496.
- LfU (Bayerisches Landesamt für Umwelt), 2007. Results of the Analysis of Flesh from Different Fish Samples. Bavarian Environment Agency, Augsburg, Germany (in German) <http://www.lfu.bayern.de/analytik_stoffe/fachinformationen/analytik_org_stoffe_perfluorierte_tenside/index.htm>.
- LGL (Bavarian Health and Food Safety Authority), 2007. Results of fish measurements in Bavaria. Personal communication.
- LHWA (Little Hocking Water Association), 2005. Notice of contamination. Little Hocking's current activities <<http://www.littlehockingwater.org>>.
- 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.
- Maestri, L., Negri, S., Ferrari, M., Ghittori, S., Fabris, F., Danesino, P., Imbriani, M., 2006. Determination of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonate in human tissues by liquid chromatography/single quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 2728–2734.
- Manning, R.O., Bruckner, J.V., Mispagel, M.E., Bowen, J.M., 1991. Metabolism and disposition of sulfluramid, a unique polyfluorinated insecticide, in the rat. *Drug. Metab. Dispos.* 19, 205–211.
- Martin, J.W., Muir, D.C.G., Moody, C.A., Ellis, D.A., Kwan, W.C., Solomon, K.R., Mabury, S.A., 2002. Collection of airborne fluorinated organics and analysis by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 74, 584–590.
- Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., 2003a. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (1), 196–204.
- Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., 2003b. Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (1), 189–195.
- Martin, J.W., Mabury, S.A., O'Brien, P.J., 2005. Metabolic products and pathways of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes. *Chemico-Biol. Interactions* 155, 165–180.
- Masunaga, S., Kannan, K., Doi, R., Nakanishi, J., Giesy, J.P., 2002. Levels of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other related compounds in the blood of Japanese people. *Organohalogen Compd.* 59, 319–322.
- Midasch, O., Schettgen, T., Angerer, J., 2006. Pilot study on PFOS and PFOA of the German general population. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209, 489–496.
- Midasch, O., Drexler, H., Hart, N., Beckmann, M.W., Angerer, J., 2007. Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 80, 643–648.
- Moriwaki, H., Takata, Y., Arakawa, R., 2003. Concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic

- acid (PFOA) in vacuum cleaner dust collected in Japanese homes. *J. Environ. Monit.* 5, 753–757.
- Nabb, D.L., Szostek, B., Himmelstein, M.W., Mawn, M.P., Gargas, M.L., Sweeney, L.M., Stadler, J.C., Buck, R.C., Fasano, W.J., 2007. In-vitro metabolism of 8-2 fluorotelomer alcohol: interspecies comparison and metabolic pathway refinement. *Toxicol. Sci.* 100, 333–344.
- 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 (Organization for Economic Co-operation and Development), 2002. Co-operation on existing chemicals. Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts. ENV/JM/RD(2002)17/FINAL, Paris.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 2005. Results of survey on production and use of PFOS, PFAS and PFOA, related substances and products/mixtures containing these substances. ENV/JM/MONO(2005)1, Paris.
- Olsen, G.W., Zobel, L.R., 2007. Assessment of lipid, hepatic, and thyroid parameters with serum perfluorooctanoate (PFOA) concentrations in fluorochemical production workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 231–246.
- Olsen, G.W., Burris, J.M., Burlew, M.M., Mandel, J.H., 2003a. Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations and medical surveillance examinations. *J. Occup. Environ. Med.* 45, 260–270.
- Olsen, G.W., Church, T.R., Miller, J.P., Burris, J.M., Hansen, K.J., Lundberg, J.K., Armitage, J.B., Herron, R.M., Medhdizadehkashi, Z., Nobiletti, J.B., O'Neill, E.M., Mandel, J.H., Zobel, L.R., 2003b. Perfluorooctane sulfonate and other fluorochemicals in the serum of American Red Cross adult blood donors. *Environ. Health Perspect.* 111, 1892–1901.
- Olsen, G.W., Logan, P.W., Hansen, K.J., Simpson, C.A., Burris, J.M., Burlew, M.M., Vorarath, P.P., Venkateswarlu, P., Schumpert, J.C., Mandel, J.H., 2003c. An occupational exposure assessment of a perfluorooctanesulfonyl fluoride production site: biomonitoring. *AIHA J.* 64, 651–659.
- Olsen, G.W., Hansen, K.J., Stevenson, L.A., Burris, J.M., Mandel, J.H., 2003d. Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctane sulfonate and other perfluorochemicals. *Environ. Sci. Technol.* 37, 888–891.
- Olsen, G.W., Church, T.R., Larson, E.B., van Belle, G., Lundberg, J.K., Hansen, K.J., Burris, J.M., Mandel, J.H., Zobel, L.R., 2004a. Serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in an elderly population from Seattle, Washington. *Chemosphere* 54, 1599–1611.
- Olsen, G.W., Church, T.R., Hansen, K.J., Burris, J.M., Butenhoff, J.L., Mandel, J.H., Zobel, L.R., 2004b. Quantitative evaluation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other vfluorochemicals in the serum of children. *J. Children's Health* 2, 53–76.
- Olsen, G.W., Huang, H.-Y., Helzlsouer, K.J., Hansen, K.J., Butenhoff, J.L., Mandel, J.H., 2005. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ. Health Perspect.* 113, 539–545.
- Olsen, G.W., Mair, D.C., Reagan, W.K., Ellefson, M.E., Ehresman, D.J., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., 2007a. Preliminary evidence of a decline in perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations in American Red Cross blood donors. *Chemosphere* 68, 105–111.
- Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., 2007b. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ. Health Perspect.* 115, 1298–1305.
- Oono, S., Matsubara, E., Harada, K.H., Takagi, S., Hamada, S., Asakawa, A., Inoue, K., Watanabe, I., Koizumi, A., 2008. Survey of airborne polyfluorinated telomers in Keihan area, Japan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 102–106.
- Piekarz, A.M., Primbs, T., Field, J.A., Barofsky, D.F., Simonich, S., 2007. Semivolatile fluorinated organic compounds in Asian and Western US air masses. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8248–8255.
- Powley, C.R., Michalczyk, M.J., Kaiser, M.A., Buxton, L.W., 2005. Determination of perfluorooctanoic acid (PFOA) extractable from the surface of commercial cookware under simulated cooking conditions by LC/MS/MS. *Analyst* 130, 1299–1302.
- Saito, N., Harada, K., Inoue, K., Sasaki, Y., Yoshinaga, T., Koizumi, A., 2004. Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan. *J. Occup. Health* 46, 49–59.
- Sasaki, K., Harada, K., Saito, N., Tsutsui, T., Nakanishi, S., Koizumi, A., 2003. Impact of airborne perfluorooctane sulfonate on the human body burden and the ecological system. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71, 408–413.
- Schultz, M.M., Barovsky, D.F., Field, J.A., 2003. Fluorinated alkyl surfactants. *Environ. Eng. Sci.* 20, 487–501.
- Shoeib, M., Harner, T., Ikonou, M., Kannan, K., 2004. Indoor and outdoor air concentrations and phase partitioning of perfluoroalkylsulfonamides and polybrominated diphenyl ethers. *Environ. Sci. Technol.* 38, 1313–1320.
- Shoeib, M., Harner, T., Wilford, B.H., Jones, K.C., Zhu, J., 2005a. Perfluorinated sulfonamides in indoor and outdoor air and indoor dust: occurrence, partitioning, and human exposure. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6599–6606.
- Shoeib, M., Harner, T., Wilford, B.H., Jones, K.C., Zhu, J., 2005b. Polyfluorinated compounds in the home: levels in air and dust and human exposure. Poster presented at FLUOROS2005, Toronto, Canada.
- Shoeib, M., Harner, T., Wilford, B.H., Jones, K.C., Zhu, J., 2006. Perfluorinated chemicals in the Arctic atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7577–7583.
- Shoeib, M., Harner, T., Zhu, J., 2007. Indoor air & dust concentrations of fluorotelomer alcohols. *Organohalogen Compd.* 69, 146–149.
- Sinclair, E., Kim, S.K., Akinleye, H.B., Kannan, K., 2007. Quantitation of gas-phase perfluoroalkyl surfactants and fluorotelomer alcohols released from nonstick cookware

- and microwave popcorn bags. Environ. Sci. Technol. 41, 1180–1185.
- Skutlarek, D., Exner, M., Färber, H., 2006. Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 13, 299–307.
- So, M.K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Giesy, J.P., Zheng, J., Fang, Z., Im, S.H., Lam, P.K.S., 2006. Health risks in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan. Environ. Sci. Technol. 40, 2924–2929.
- Stahl, T., 2007. Messungen des Landesbetriebes Hessisches Landeslabor, Abt. V, Umwelt- und Spurenanalytik. Personal communication.
- Stock, N.L., Lau, F.K., Ellis, D.A., Martin, J.W., Muir, D.C.G., Marbury, S.A., 2004. Perfluorinated telomer alcohols ad sulfonamides in the North American troposphere. Environ. Sci. Technol. 38, 991–996.
- Stock, N.L., Furdui, V.I., Muir, D.C.G., Marbury, S.A., 2007. Perfluoroalkyl contaminants in the Canadian arctic: evidence of atmospheric transport and local contamination. Environ. Sci. Technol. 41, 3529–3536.
- Strynar, M.J., Lindstrom, A.B., 2008. Perfluorinated compounds in house dust from Ohio and North Carolina, USA. Environ. Sci. Technol. 42, 3751–3756.
- Sugita, K., Koyano, M., Endo, O., Watanabe, T., Yamashita, N., Ushiyama, A., Suzuki, G., 2007. Perfluorinated compound levels in urban airborne particles – recent aspects in Tokyo area. Organohalogen Compd. 69, 2885–2888.
- Taniyasu, S., Kannan, K., Horii, Y., Hanari, N., Yamashita, N., 2003. A survey of perfluorooctane sulfonate and related perfluorinated organic compounds in water, fish, birds, and humans from Japan. Environ. Sci. Technol. 37, 2634–2639.
- Tittlemier, S.A., Ryan, J.J., Van Oostdam, J., 2004. Presence of anionic perfluorinated organic compounds in serum collected from northern Canadian populations. Organohalogen Compd. 66, 4009–4014.
- Tittlemier, S.A., Pepper, K., Edwards, L., Tomy, G., 2005. Development and characterization of a solvent extraction-gas chromatographic/mass spectrometric method for the analysis of perfluorooctanesulfonamide compounds in solid matrices. J. Chromatogr. A 1066, 189–195.
- Tittlemier, S.A., Edwards, L., Pepper, K., 2006. Concentrations perfluorooctane sulfonamides in Canadian total diet studies composite food samples collected between 1992 and 2004. J. Agric. Food Chem. 54, 8385–8389.
- Tittlemier, S.A., Pepper, K., Seymour, C., Moisey, J., Bronson, R., Cao, X.-L., Dabeka, R.W., 2007. Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast food, and food items prepared in their packing. J. Agric. Food Chem. 55, 3203–3210.
- Tomy, G.T., Tittlemier, S.A., Palace, V.P., Budakowski, W.R., Brarkevelt, E., Brinkworth, L., Friesen, K., 2004. Biotransformation of *N*-ethyl perfluorooctanesulfonamide by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver microsomes. Environ. Sci. Technol. 38, 758–762.
- US EPA (US Environmental Protection Agency), 1997. Exposure Factors Handbook, vol. 1 – General Factors. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC.
- US EPA, 2001. Analysis of PFOS, FOSA, and PFOA from various food matrices using HPLC electrospray/mass spectrometry. 3M Study conducted by Centre Analytical Laboratories, Inc. <http://www.ewg.org/files/multicity_full.pdf>, [accessed 4 January 2008].
- US EPA, 2002. 3M Phase-out Plan for POSF-Based Products. Administrative Record AR 226-0600. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- US EPA, 2005. Draft risk assessment of the potential human health effects associated with exposure to perfluorooctanoic acid and its salts. OPPT review, <<http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/pfoarisk.pdf>> [accessed 4 January 2008].
- Völkel, W., Genzel-Boroviczeny, O., Demmelmair, H., Gebauer, C., Koletzko, B., Verdugo-Raab, U., Twardella, D., 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.
- Völkel, W., Eisenmenger, W., Fromme, H., 2007. Perfluorinated substances in liver tissue of humans. Report of a pilot study. Department of Environmental Medicine, Bavarian Health and Food Safety Authority. Oberschleissheim, Germany [in German].
- Vyas, S.M., Kania-Korwel, I., Lehmler, H.-J., 2007. Differences in the isomer composition of perfluorooctanesulfonyl (PFOS) derivatives. J. Environ. Sci. Health Part A 42, 249–255.
- Wang, N., Stostek, B., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Capka, V., Buck, R.C., Berti, W.R., Gannon, J.T., 2005. Aerobic biotransformation of ¹⁴C-labeled 8-2 telomer B alcohol by activated sludge from domestic sewage treatment plant. Environ. Sci. Technol. 39, 531–538.
- Washburn, S.T., Bingman, T.S., Braithwaite, S.K., Buck, R.C., Buxton, L.W., Clewell, H.J., Haroun, L.A., Kester, J.E., Rickard, R.W., Shipp, A.M., 2005. Exposure assessment and risk characterization for perfluorooctanoate in selected consumer articles. Environ. Sci. Technol. 39, 3904–3910.
- Wilhelm, M., Angerer, J., Fromme, H., Hölzer, J., 2007. Contribution to the evaluation of reference values for PFOA and PFOS in plasma of children and adults from Germany. Int. J. Hyg. Environ. Health. Online published: doi:10.1016/j.ijheh.2007.11.002.
- Wilhelm, M., Kraft, M., Rauchfuss, K., Hölzer, J., 2008a. 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 71, 725–733.
- Wilhelm, M., Hölzer, J., Dobler, L., Rauchfuss, K., Midasch, O., Kraft, M., Angerer, J., Wiesmüller, G., 2008b. 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. Online published: doi:10.1016/j.ijheh.2008.04.008.
- Xu, L., Krenitsky, D.M., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Anders, M.W., 2004. Biotransformation of *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxyethyl)perfluorooctanesulfonamide by rat liver

- microsomes, cytosol, and slices and by expressed rat and human cytochromes P450. *Chem. Res. Toxicol.* 17, 767–775.
- Xu, L., Krenitsky, D.M., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Tephly, T.R., Anders, M.W., 2006. *N*-glucuronidation of perfluorooctanesulfonamide by human, rat, dog, and monkey liver microsomes and by expressed rat and human UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab. Dispos.* 34, 1406–1410.
- Yang, J.H., Kannan, K., Kim, S.-Y., Shin, I.-H., 2004. Levels of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from the general population of Korea. *Organohalogen Compd.* 66, 4041–4045.
- Yeung, L.W., So, M.K., Jiang, G., Taniyasu, S., Yamashita, N., Song, M., Wu, Y., Li, J., Giesy, J.P., Guruge, K.S., Lam, P.K.S., 2006. Perfluorooctanesulfonate and related perfluorochemicals in human blood samples from China. *Environ. Sci. Technol.* 40, 715–720.

REVIEW

Open Access

Toxicology of perfluorinated compounds

Thorsten Stahl^{1*}, Daniela Mattern² and Hubertus Brunn²

Abstract

Perfluorinated compounds [PFCs] have found a wide use in industrial products and processes and in a vast array of consumer products. PFCs are molecules made up of carbon chains to which fluorine atoms are bound. Due to the strength of the carbon/fluorine bond, the molecules are chemically very stable and are highly resistant to biological degradation; therefore, they belong to a class of compounds that tend to persist in the environment. These compounds can bioaccumulate and also undergo biomagnification. Within the class of PFC chemicals, perfluorooctanoic acid and perfluorosulphonic acid are generally considered reference substances. Meanwhile, PFCs can be detected almost ubiquitously, e.g., in water, plants, different kinds of foodstuffs, in animals such as fish, birds, in mammals, as well as in human breast milk and blood. PFCs are proposed as a new class of 'persistent organic pollutants'. Numerous publications allude to the negative effects of PFCs on human health. The following review describes both external and internal exposures to PFCs, the toxicokinetics (uptake, distribution, metabolism, excretion), and the toxicodynamics (acute toxicity, subacute and subchronic toxicities, chronic toxicity including carcinogenesis, genotoxicity and epigenetic effects, reproductive and developmental toxicities, neurotoxicity, effects on the endocrine system, immunotoxicity and potential modes of action, combinational effects, and epidemiological studies on perfluorinated compounds).

Keywords: PFCs, PFOA, PFOS, toxicology

Introduction

Perfluorinated compounds [PFCs] are organic substances in which all of the hydrogens of the hydrocarbon backbones are substituted with fluorine atoms. The fluorine-carbon bonds are extremely stable conferring these substances with very high thermal and chemical stability. PFCs are persistent, and some of the substances bioaccumulate in the environment.

They can be divided into the groups of perfluorinated sulfonic acids, perfluorinated carboxylic acids [PFCA], fluorotelomer alcohols, high-molecular weight fluoropolymers and low-molecular weight perfluoroalkanamides. Perfluorooctanesulfonic acid [PFOS] and perfluorooctanoic acid [PFOA], often referred to as reference or key substances for the first two groups, have been most intensively studied from a toxicological standpoint.

PFCs have been synthesized for more than 50 years and are used in numerous industrial and consumer products. These compounds are intermediates or additives in the synthesis of certain fluorine compounds or their

decomposition products. These fluorine compounds are commonly used in consumer products as stain/water/grease repellents in carpets and clothing or in cooking utensils as nonstick coatings [1,2].

The potentially toxic effects of these substances are presently being studied with increasing intensity. The relevance of this topic is also clearly reflected by the number of publications that have appeared in recent years. This increasing interest is the result of reports of toxic effects of PFCs in connection with the ubiquitous detection of this substance in the environment and in sundry matrices, i.e., bodies of water, wild animals, human blood, and breast milk samples, all of which have come to the attention of the public.

An estimate was published in 2008 by the German Federal Institute for Risk Assessment [BfR] and the European Food Safety Authority [EFSA] regarding the potential risks of PFCs in food stuffs for human health. In this document, it was reasoned that adverse effects for the general population were unlikely, based on the known PFC concentrations in food stuffs and serum samples and the present state of scientific knowledge. However, uncertainty was noted in the risk evaluation, and available data are inadequate in regard to the

* Correspondence: thorsten.stahl@lhl.hessen.de

¹Hessian State Laboratory, Glarusstr. 6, Wiesbaden, D-65203, Germany
Full list of author information is available at the end of the article

diversity of foodstuffs. In addition, only PFOS and PFOA were considered in the risk evaluation, but according to the Organisation for Economic Co-operation and Development [OECD], 853 different poly- and perfluorinated compounds exist [3,4].

In a European Union [EU]-supported research project, which began in August 2009 and was called Perfluorinated Organic compounds in our Food [PERFOOD], efforts are being made to estimate the dietary exposure to PFCs. The present review summarizes current data on exposure and provides an overview of the present toxicological evaluation of PFOS and PFOA, as well as other PFCs.

Exposure to polyfluorinated compounds

Exposure via the food chain

Dietary uptake

One of the pathways by which PFCs can be taken up is through the ingestion of contaminated foodstuffs and/or drinking water. PFCs have been detected in fish, meat, milk products, and plants, e.g., grains. Plants can apparently take up PFCs from contaminated soil. This hypothesis was examined by Weinfurtnner et al. [5], showing that the transfer of PFCs from the soil to the plants for potatoes, silage corn, and wheat was so marginal that no health danger for humans would be expected by this path of uptake.

Stahl et al. [6] described for the first time a significant, concentration-dependent transfer ('carry over') of PFCs from the soil to the plant. The higher the concentration of PFOA and PFOS in the soil, the higher the concentration that could be detected in the plants. The uptake and storage of these substances in the vegetative parts of the plants appear to be more significant than the transfer to the storage organs within the plants. In this study, the uptake, distribution, and storage of PFOA and PFOS were seen to be dependent upon the type of plant. The uptake of PFOA and PFOS from contaminated soil by plants enables the entrance of PFCs into the food chain of humans and may provide an explanation for the presence of these compounds in, for example, foodstuffs of animal origin, human blood samples, and human breast milk [6].

Trudel et al. [7] reported that oral ingestion of contaminated foodstuffs and drinking water accounts for the largest proportion of PFOA and PFOS exposures for adults. Tittlemier et al. [8] and Haug et al. [9,10] also expressed the opinion that foodstuffs are the most important uptake path. Within the framework of the 'Canadian Total Diet Study,' the authors calculated that Canadians ingest on an average of 250 ng of PFCA and PFOS per day. Scheringer et al. [11] also had come to the conclusion that 90% of all PFOS and PFOA exposures is derived from food. Similarly, Vestergren and

Cousins [12] are convinced that the main exposure of humans to PFOA is through dietary uptake.

Fromme et al. [13] quantified PFC dietary exposure in Germany. The authors collected and analyzed 214 duplicate meals and beverages from 31 volunteers aged 16 to 45 years old on 7 days in a row. The samples were tested for content of numerous PFCs. The results for PFOS and PFOA uptake of the general population are presented in Table 1.

Perfluorohexane sulfonate [PFHxS] and perfluorohexane acid [PFHxA] levels above the limit of detection [LOD] of 0.1 or 0.2 µg/kg fresh weight, respectively, were detected in only a few samples (3% and 9% of the 214 samples, respectively), whereas perfluorooctane sulfonamide [FOSA] was not detected (LOD = 0.2 µg/kg fresh weight). These authors also assume that dietary uptake represents the main source of PFC exposure for humans [13].

Numerous foodstuffs were tested for the presence of PFOS, PFOA, and other PFCs within the framework of the 'UK Total Diet Study' in 2004. PFOS concentrations above the LOD^a were detected in potatoes, canned vegetables, eggs, sugar, and preserves. Particularly striking was the group of potato products, where in addition to PFOD, PFOA and 10 other PFCs were detected. The upper and lower bounds of total PFOS and PFOA uptake from foodstuffs are estimated in Table 2[14,15].

Inhabitants of reputedly remote regions are by no means exempt from the uptake of PFCs in their food. In a recent study, Ostertag et al. [16] examined the dietary exposure of Inuit in Nunavut (Canada) to these substances. The authors calculated an average daily exposure of 210 to 610 ng/person. The traditional foods such as caribou meat contributed to a higher PFC exposure for this population group. Caribou meat contributed 43% to 75% of the daily exposure [16].

In 2008, an exposure assessment was made on dietary uptake of PFOS and PFOA in connection with possible health effects. The report was based on published data concerning concentrations of PFOS and PFOA in various foods in Europe and on the amount of the individual foods consumed according to the 'Concise European Food Consumption Database' [15]. Since the data for other foods were inadequate to make an exposure assessment, it was based solely on the presence of PFOS and PFOA in fish and drinking water. The results

Table 1 Dietary uptake of PFOS and PFOA (ng/kg BW/day) by adults in Germany

Substance	Range	Mean	Average	90th percentile
PFOS	0.6 to 4.4	1.4	1.8	3.8
PFOA	1.1 to 11.6	2.9	3.9	8.4

Adapted from Fromme et al. [13]; *n* = 214.

Table 2 PFOS and PFOA uptake (ng/kg BW/day) from UK Total Diet Study of adults and children

Substance	Average consumption		Heavy consumption	
	Adults	Children ^a	Adults	Children ^a
PFOS	10 to 100	50 to 300	30 to 200	100 to 500
PFOA	1 to 70	4 to 200	3 to 100	10 to 300

^aIn each case, the age group with the highest estimated uptake is listed.
Adapted from UK FSA [14]; EFSA [15].

of the exposure assessment for PFOS suggest a daily exposure of 60 ng/kg body weight [BW] for persons who consume average amounts of fish or 200 ng/kg BW those who consume large amounts of fish. For PFOA, the daily uptake was estimated at 2 ng/kg BW/day, and for those who eat larger amounts of fish and fish products, the estimate was 6 ng/kg BW/day [15].

The estimated consumption of drinking water was 2 L/person/day. The uptake from drinking water of PFOS and PFOA were *ca.* 0.5% and 18%, respectively, of the average amount taken up by consumption of fish and fish products. For further details, see Table 3.

The German BfR [17] also undertook an assessment of dietary exposure of the general population to PFOS and PFOA. As a basis for the calculations, the Federal Office of Consumer Protection and Food Safety provided data on PFC concentrations in foods from 2006 to 2008. The data were, for the most part, derived from the Federal Control Plan (2007) 'Perfluorinated surfactants in specific foods' and encompassed 3, 983 test results on contents of PFOS (1993 data sets) and PFOA (1990 data sets) in foodstuffs. Concentrations of the substances were measured in chicken eggs, beef and poultry liver, pork, game and fish offal, poultry and game meat, salt water and fresh water fish, French fries, honey, and drinking water. In addition, the records contained data on the consumption of food and food products by the German population derived from a survey made in 1998. Since one must assume that for over a longer period of time, some foods that have a higher PFC concentration and others with a lower concentration will be consumed, the statistical calculations were made using an average^b value. In addition, the possibility had to be considered that foods that have exceptionally high

concentrations may be consumed perhaps because of unusual local paths of entry. Therefore, exposure through particularly heavily contaminated foods was quantified for both average and above average consumers. The following scenarios were assumed for exposure assessment:

- Average concentration of PFOS and/or PFOA and average amounts consumed
- High concentration of PFOS and/or PFOA and average amounts consumed
- Average concentration of PFOS and/or PFOA and large amounts consumed
- High concentrations of PFOS and/or PFOA and large amounts consumed (worst case).

The PFOS and PFOA dietary uptake of the general population, divided into the four scenarios described above, can be seen in Table 4. In addition, the table shows the percentage of the EFSA-derived tolerable daily intake [TDI] calculated for PFOS and PFOA uptake.

In this exposure assessment, drinking water played a relatively small role in the total exposure to PFOS. The average PFOS uptake from drinking water by an average consumer amounted from 0.02 to 0.08 ng/kg BW/day. The average PFOA uptake from drinking water, however, amounted from 0.32 to 0.40 ng/kg BW/day. Thus, the total PFOA uptake, including drinking water, amounted from 1.03 to 1.34 ng/kg BW/day for an average consumer [17]. If, however, the water is contaminated by an unusual source of PFCs, the role of drinking water in exposure to these substances may be considerable. This was the case, for example, in Arnsberg, Germany where the source of drinking water in 2006 was the PFC-contaminated river, Möhne [18]. Hölzer et al. [19] measured a PFOA concentration 4.5 to 8.3 times higher in the blood plasma of residents than in the plasma of a reference population from the neighboring towns, Siegen and Brilon. The mean concentrations of PFOA in the blood are shown in Table 5. The highest PFC concentration detected in the contaminated drinking water was for PFOA [19].

Table 3 PFOS and PFOA uptake through consumption of drinking water and fish and fish products

Substance and percentage of uptake from drinking water	Uptake from drinking water	Uptake from average consumption of fish and fish products (ng/kg BW/day)	Uptake from high consumption of fish and fish products (ng/kg BW/day)
PFOS	0.24	45 to 58	140 to 230
Percentage of uptake from drinking water		0.4% to 0.5%	0.1% to 0.2%
PFOA	0.31	1.7 to 2.1	4.5 to 7.5
Percentage of uptake from drinking water		15% to 18%	4% to 7%

Adapted from EFSA [15].

Table 4 PFOS and PFOA dietary exposure model (ng/kg BW/day) according to uptake scenarios and corresponding TDI

Criterion	Average consumption	High consumption ^b
Average PFOS content	2.30 to 3.69	up to 8.92
Percentage of TDI ^a	1.5% to 2.5%	5.9%
High PFOS content	8.53 to 10.22	up to 26.02
Percentage of TDI	5.7% to 6.8%	17.3%
Average PFOA content	0.71 to 0.95	up to 2.07
Percentage of TDI	0.05% to 0.06%	0.14%
High PFOA content	up to 5.7	up to 13.11
Percentage of TDI	0.38%	0.87%

^aTDI for PFOS = 150 ng/kg BW/day, TDI for PFOA = 1, 500 ng/kg BW/day (adapted from EFSA [15]); ^bthe 95th percentile of the assumed amount of consumption was chosen for the calculation. The model calculation was adapted from BfR [17].

In a follow-up study, it was shown that elimination of PFCs from humans occurs slowly. The geometric mean of the PFOA concentrations in plasma decreased on an average of 10% per year for men, 17% per year for women, and 20% per year for children [20].

Another study showed that there was no increased PFC exposure in this region in 2006 before contamination of the drinking water. Samples of blood from 30 residents that had been drawn between 1997 and 2004 contained PFOS and PFOA concentrations comparable with those of the general population in Germany [21].

After concentrations as high as 0.64 µg/L were measured in drinking water in Arnsberg in 2006, the German Drinking Water Commission derived a critical limit of 0.3 µg/L for a health-based, lifelong exposure to PFOS and PFOA in drinking water. PFOS and PFOA concentrations in drinking water can be reduced by active charcoal filtration. Use and manufacture of PFOS are strictly limited by legal regulation, and a voluntary reduction of PFOA is being sought. Therefore, the focus of a study by Wilhelm et al. [22] was placed on short-chain C4-C7 compounds that are presently finding use as substitutes for PFOS and PFOA. In a new approach to evaluate short-chain PFCs, based on their half-life in humans, the following preliminary health-related indication values were considered safe for a lifelong exposure via drinking water: 7 µg/L for perfluorobutanoic acid [PFBA], 3 µg/L for perfluoro-n-pentanoic acid [PFPeA],

1 µg/L for PFHxA, 0.3 µg/L for perfluoroheptanoic acid [PFHpA], 3 µg/L for perfluorobutanesulfonic acid [PFBS], 1 µg/L for perfluoropentane-1-sulfonic acid [PFPeS], 0.3 µg/L for PFHxS, and 0.3 µg/L for perfluoroheptane sulfonic acid [PFHpS]. A long-range minimum quality goal or general precautionary value for all PFCs in drinking water was set at ≤ 0.1 µg/L [22].

A study by Mak et al. [23] compared PFC concentrations in tap water from China with that from Japan, India, the USA, and Canada. Samples were collected between 2006 and 2008. Tap water from Shanghai, China contained the highest concentration of PFCs (arithmetic mean sum PFCs 0.13 µg/L; PFOA 0.078 µg/L). The lowest values were obtained from Toyama, Japan (0.00062 µg/L). In addition to PFOS and PFOA, drinking water appears to also contain short-chain PFCs such as PFHxS, PFBS, PFHxA, and PFBA. In relation to the guidelines set down by the United States Environmental Protection Agency [US EPA] and the Minnesota Department of Health (PFOS 0.2 µg/L, PFOA 0.4 µg/L, PFBA 1.0 µg/L, PFHxS 0.6 µg/L, PFBS 0.6 µg/L, PFHxA 1.0 µg/L, PFPeA 1.0 µg/L), tap water from these countries should not present a health risk for consumers, in respect to PFC contamination [23].

In a review article from Rumsby et al. [24] on PFOS and PFOA in drinking water and in diverse environmental bodies of water, the authors also conclude that PFOS and PFOA are detectable worldwide. Aside from situations in which there are unusual sources of contamination, the concentrations measured are, however, below existing health-based guidelines specified by various international bodies (0.3 to 0.5 µg/L). Nonetheless, further studies of short-chain PFCs such as PFBS must be undertaken. This substance has a shorter half-life, is less toxic, and is not bioaccumulative, but it is nonetheless persistent, and its possible degradation products remain unknown [24].

D'Eon et al. [25] point out that perfluorinated phosphonic acids [PFPA] should also be measured in future environmental monitoring studies. These substances were detected in 80% of all surface water samples and in six out of seven sewage treatment plant outflow samples in Canada. C8-PFPA was detected in concentrations from 0.088 ± 0.033 to 3.4 ± 0.9 ng/L in surface water and from 0.76 ± 0.27 to 2.5 ± 0.32 ng/L in sewage treatment plant outflow samples. Since they are structurally similar, one can assume that just like perfluorocarboxylic acids and perfluorosulfonic acids, PFPA are also persistent [25].

Human exposure via fish consumption

In addition to drinking water, PFC accumulation in fish is also of particular importance for the internal contamination of humans. According to the exposure assessment of the German BfR consumption of salt water and

Table 5 Arithmetic/geometric mean of PFOS concentration in the blood (µg/L)

Test person	Resident of Arnsberg	Reference population
Children	24.6/22.1	5.2/4.8
Women	26.7/23.4	3.2/2.8
Men	28.5/25.3	6.4/5.8

Residents of Arnsberg were compared with the reference population (adapted from Hölzer et al. [19]).

fresh water, fish accounts for approximately 90% of the total dietary exposure to PFOS [17].

The fact that fish are often highly contaminated is a result of the pronounced biomagnification of these substances via the aquatic food chain. The role of fish consumption is apparent in a model calculation by Stahl et al. [26]. Based on the recommendation of the BfR of 0.1 µg PFOS/kg BW/day as a preliminary daily tolerable uptake, a 70-kg adult should not exceed 7 µg of PFOS [26]. Eating reasonable amounts of fish with high levels of contamination, i.e., from bodies of water with unusual sources of PFCs, may in itself result in reaching or exceeding this limit for the short term [26]. For example, eating 8 g of eel from Belgium with a concentration of 857 µg PFOS/kg fresh weight or eating 0.6 g of trout from the upper Sauerland region of Germany with a measured maximum level of 1,118 µg/kg fresh weight, is already adequate. Consumption of a normal portion (300 g) of these trout would result in exceeding the limit by a factor of 57 [26]. PFC contamination of fish was also dealt within the following studies:

As an example, analysis was made from a total of 51 eels, 44 bream, 5 herring, 5 mackerel, 3 carp, and 4 trout from various bodies of water in Germany (North Sea, Baltic Sea, Lake Storko in Brandenburg, rivers in Lower Saxony, rivers and lakes within the city limits of Berlin). None of the fish fillet samples had PFOA levels above the limit of detection (0.27 µg/kg); however, PFOS concentrations of 8.2 to 225 µg/kg fresh weight were measured in fish from densely populated regions. With regard to the TDI of 150 µg/kg BW/day [15] and assuming the consumption of fish on a regular basis, the PFC concentrations in 33 of the 112 fish examined represent a potential health risk to heavy consumers of fish [27].

In a Swedish study, the authors also came to the conclusion that consumption of fish from fishing grounds with high concentrations of PFCs in the water can play an important role in dietary PFOS exposure [28]. Fish from Lake Vättern (mean 2.9 to 12 µg/kg fresh weight) had higher PFOS concentrations in the muscle tissue than fish from the brackish water of the Baltic Sea (mean 1.0 to 2.5 µg/kg fresh weight). A PFOS uptake of 0.15 ng/kg BW/day was estimated for a moderate consumption (two portions of 125 g/month) and 0.62 ng/kg BW/day for a higher consumption (eight portions per month) of fish from the Baltic Sea. A PFOS uptake of 2.7 ng/kg BW/day was calculated for people who eat large amounts of fish from Lake Vättern.

No foods that have been examined to date other than fish were found to have a level of contamination great enough to result in reaching the TDI for PFOS or PFOA, assuming realistic consumed amounts. By way of example, according to the model calculations shown

above, an adult in the USA would have to consume 12 kg of beef (0.587 µg PFOS/kg) or 12 L of milk (0.693 µg PFOS/L) per day (at the measured levels of contamination in the USA) in order to reach the TDI [26].

Furthermore, offal from game contained the highest concentrations of PFOS and PFOA of all foods. The PFOS concentrations in offal from game were 100-fold higher than those in muscle tissues [17]. Data from a number of studies reporting PFC concentrations measured in diverse foods and tap water [7,14,17,29] are summarized in Table 6.

A detailed, up-to-date survey on the presence of PFCs in foods was also recently published by the EFSA [30] with the title 'Results of the monitoring of perfluoroalkylated substances in food in the period 2000 to 2009.'

When making an exposure assessment, it is important to take into account the fact that many different foods are generally consumed. Studies with the aim of representing the total dietary intake are both quantitatively and qualitatively inadequate. For example, in the various studies including those of the EFSA and the BfR, only a selection of foods were included. In addition, the number of samples was, in part, too small to provide a representative value. For these reasons, the exposure assessments presently available should be considered exploratory. Specific regional sources of contamination can increase PFC levels in foods and drinking water. Furthermore, individual dietary habits, i.e., a predilection for fish or offal from game, must be considered, and additionally, perfluorinated compounds other than PFOS and PFOA must be monitored. Since most studies have examined fresh and unpackaged foods, the effects of migration of PFCs from packaging and cooking utensils on the food products have not been taken into consideration.

Exposure of food to food contact materials

When coming into contact with foods, paper and cardboard packaging are protected from softening by treatment with, among other things, water- and oil-resistant perfluoro chemicals. Fluorotelomer alcohols [FTOH] may be present as contaminants in the coatings. About 1% of the FTOH can be converted to PFOA in the body [31,32]. Furthermore, PFOA is used in the production of polytetrafluoroethylene [PTFE] nonstick surface coatings for cooking utensils or paper coatings and may therefore be present in residual amounts [33]. A migration of < 6 µg/kg (< 1 µg/dm²) FTOH into food has been calculated as the sum of 6:2 FTOH, 8:2 FTOH, and 10:2 FTOH in an acetone extract of treated paper under the assumption of complete migration [15,33]. Powley et al. [34], using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry were unable to detect a migration of PFOA from PFTE-coated cooking utensils (LOD 0.1 ng/cm²).

Table 6 PFOS and/or PFOA concentrations of various foods (µg/kg)

Food product	Substance	Germany [17]	Europe [7]	Spain [29]	UK [14]
Grain products	PFOS	n.r.	< LOQ	< 0.069	< 10 ± < 2
	PFOA	n.r.	< LOQ to 0.5	< 0.080	< 5 ± < 1
Milk	PFOS	n.r.	< LOQ to 0.5	< 0.014	< 0.5 ± < 0.1
	PFOA	n.r.	< LOQ	0.056	< 0.5 ± < 0.1
Milk products	PFOS	n.r.	0.04 to 0.08	0.121	< 5 ± < 1
	PFOA	n.r.	< LOQ	< 0.040	< 5 ± < 1
Eggs	PFOS	0.51	0.08 to 0.5	0.082	1 ± 0.2
	PFOA	1.6	< LOQ	< 0.055	< 1 ± < 0.2
Fats and oils	PFOS	n.r.	< LOQ	< 0.099	< 0.5 ± < 0.1
	PFOA	n.r.	< LOQ	< 0.247	< 1 ± < 0.2
Fish	PFOS	9 to 67	0.2 to 60	0.407	< 5 ± < 1
	PFOA	1.3 to 2	< LOQ to 2	< 0.065 ^a	< 3 ± < 0.6
Meat	PFOS	n.d.	0.03 to 0.5	0.045	< 10 ± < 2
	PFOA	n.d.	< LOQ to 1	< 0.053 ^b	< 2 ± < 0.4
Offal from game	PFOS	172	n.r.	n.r.	n.r.
	PFOA	4.3 to 6.9	n.r.	n.r.	n.r.
Fruits	PFOS	n.r.	0	< 0.017	< 2 ± < 0.4
	PFOA	n.r.	< LOQ to 0.3	< 0.036	< 5 ± < 1
Vegetables	PFOS	n.d.	< LOQ to 0.5	0.022	< 3 ± < 0.6
	PFOA	n.d.	< LOQ to 0.3	< 0.027	< 10 ± < 2
Potatoes	PFOS	1.2	4 to 8	n.r.	10 ± 2
	PFOA	n.d.	0.4 to 2	n.r.	1 ± 0.2
Candies/Honey/Sugar	PFOS	n.d.	0.8 to 1.2	n.r.	1 ± 0.2
	PFOA	0.5	< LOQ	n.r.	< 1 ± < 0.2
Tap water	PFOS	0.004 to 0.008	< LOQ to 0.01	n.r.	n.r.
	PFOA	0.02 to 0.13	< LOQ to 0.2	n.r.	n.r.

^aFish; ^bpork; n.r., not reported; n.d., not detected; LOQ, limit of quantification.

Begley et al. [35] showed that nonstick cooking utensils contribute less to PFC exposure to food than coated papers or cardboard boxes. Residual amounts of PFOA in the range of a few micrograms per kilogram or nanograms per gram were all that could be detected in PTFE cooking utensils. Of the total amount of PFOA in a PTFE strip, 17% (30 ng/dm²) migrated into the food simulant heated to 175°C for 2 h. In contrast, some paper and cardboard surface coatings contained large amounts of PFCs. For example, microwave popcorn bags were found to contain 3 to 4 mg/kg (11 µg/dm²).

After heating, the PFOA concentration in the popcorn itself was about 300 µg/kg. PFOA migrated into the oil that coated the popcorn. Migration was enhanced by a temperature of 200°C [35].

Sinclair et al. [36] examined the emission of residual PFOA and FTOH from nonstick cooking utensils and microwave popcorn bags upon heating to normal cooking temperatures (179°C to 233°C surface temperature). Heating nonstick frying pans released 7 ng to 337 ng (0.11 to 5.03 ng/dm²) PFOA in the gas phase. Furthermore, concentrations of 6:2 FTOH and 8:2 FTOH of

< 0.15 to 2.04 ng/dm² and 0.42 to 6.25 ng/dm² were detected. Repeated use of some frying pans was observed to result in a reduction in PFOA concentrations emitted in the gas phase. However, this was not the case for all frying pans from all of the manufacturers tested. In addition, 5 to 34 ng PFOA and 223 ± 37 ng (6:2 FTOH) as well as 258 ± 36 ng (8:2 FTOH) per bag were detected in the emitted vapor from microwave popcorn bags [36].

Tittlemier et al. [37], in the Canadian Total Diet Study, examined food samples between 1992 and 2004 for contamination with *N*-ethylperfluorooctyl sulfonamide [N-EtFOSA], FOSA, *N,N*-diethyl-perfluorooctanesulfonamide, *N*-methylperfluorooctyl sulfonamide, and *N,N*-dimethyl-perfluorooctanesulfonamide. FOSA, in ng/kg and a few µg/kg amounts, was detected in all food products tested (pastries, candies, milk products, eggs, fast-food products, fish, meat, and convenience foods). The highest concentrations (maximum 27.3 µg/kg) were found in fast-food products (French fries, sandwiches, pizza), which are foods that are commonly packaged in grease-proof paper. Dietary FOSA uptake in Canada was

estimated to be 73 ng/person/day. The *N*-EtFOSA concentrations in the samples seem to drop throughout the time period of sampling. This is possibly the result of fact that manufacturing of perfluoro octylsulfonyl compounds was discontinued [37,38].

In studies of packaged food products carried out by Ericson Jogsten et al. [39], PFHxS, PFOS, PFHxA, and PFOA were detected at levels above the LOD (PFHxS 0.001 µg/kg, PFOS 0.008 µg/kg, PFHxA 0.001 µg/kg, PFOA 0.063 µg/kg) in at least one mixed-food sample. Among the packaged foods tested were goose liver paté, deep-fried chicken nuggets, frankfurters, marinated salmon, and head lettuce [39].

Similar to the results of Begley et al. [35], the US Food and Drug Administration [FDA] named coated paper as the largest possible source of fluorochemicals. According to the FDA, nonstick frying pans are, by comparison, an insignificant source of PFCs [15]. In the ninth list of substances for food contact materials, the EFSA Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food [AFC] recommends limiting the use of ammonium perfluorooctanoate [APFO] for articles with repeated use to those on which the coating is baked at a high temperature. According to the analytical data, APFO, as auxiliary material in the production of PTFE, could not be detected at levels above the LOD of 20 µg/kg in the finished product. In the worst case, the AFC determined an APFO migration of 17 µg/kg food [15]. As a result of advances in food technology, contamination of foodstuffs during manufacturing, packaging, or cooking only plays a minor role in the total exposure of humans to PFCs [15].

The German Federal Environment Agency has rated the uptake of PFCs through the use of nonstick pots and pans as low. The available data are, however, not yet adequate for a reliable assessment of PFC exposure through food contact materials [4].

Several studies point out the possibility of underestimation of PFC exposure through food contact materials. Mixtures of perfluorooctanesulfonamide esters are often used in the manufacture of water- and greaseproof papers and cardboards. These perfluorooctylsulfonyl compounds have yet to be studied. They may remain as residues in the coatings and migrate into the food.

D'Eon and Mabury [40] examined the formation of PFCA through the biotransformation of polyfluoroalkyl phosphate surfactants [PAPS]. The authors showed that, in spite of their large molecular size, these substances are bioavailable and that PFOA and other PFCs may be formed by their biotransformation. PAPS can probably be degraded by dephosphorylating enzymes in organisms because of the phosphate-ester bond between the fluorinated part and the acidic head group. However, it should be noted that the rats in this study were fed high

oral doses of 200 mg/kg PAPS. Renner raises concerns of the fact that PAPS may migrate much more effectively into emulsions such as butter, margarine, or lecithin additives than into food simulants such as oil or water [40,41].

The fact that studies using conventional food simulants do not accurately reflect the actual migration of fluorochemicals into food was confirmed by Begley et al. [42]. They recommend an emulsion containing oil as simulant for greasy food products. The authors measured the migration of three PAPS from the paper packing material, finding 3.2 mg/kg in popcorn after preparation and 0.1 mg/kg in packaged butter after a 40-day storage by 4°C [42].

Lv et al. [43] determined the contents of PFOA and PFOS in packing materials and textiles by means of liquid extraction under pressure and subsequent gas chromatography coupled with mass spectroscopy analysis. PFOA concentrations of 17.5 to 45.9 µg/kg and PFOS concentrations of 17.5 to 45.9 µg/kg were found in the packing materials and textiles tested [43].

Given the present state of knowledge, it is not possible to say whether the use of nonstick-coated cooking utensils or packaging materials with PFC-based coating lead to a significant increase in dietary internal PFC contamination of humans.

Additional potential pathways of exposure leading to internal polyfluorinated compound contamination of humans

PFCs may also enter the body by ingestion of dust and dirt particles and by contact with products that have been treated with substances that contain PFCs or its precursor compounds [9,44]. These may include carpets, upholstered furniture, or textiles. These routes of entry may be of particular importance in regard to children because contact can occur indirectly by hand-to-mouth transfer or directly if an infant sucks on the product. Another route that must be considered is inhalation of PFCs in indoor or outdoor air [10,45,46] as well as the inhalation of waterproofing sprays. Dermal exposure may also occur by skin contact with PFC-treated products [17].

Exposure via non-food personal items

An estimate of exposure via non-food products is difficult because of the large number of possible applications of PFCs such as for jackets, trousers, shoes, carpets, upholstered furniture, and as cleaning agents. In addition, only data are available concerning possible PFCs exposure via non-food products. In order to make an estimation of exposure, research groups such as Washburn et al. [47] have resorted to the use of models.

In this study, the concentrations of deprotonated PFOA [PFO] (the anion of PFOA) were determined by

Table 7 PFO concentrations in consumer articles (from Washburn et al. [47])

Product group	Concentration according to information on product composition (mg PFO/L)	Calculated total concentration in the end product (mg PFO/kg end product)	Results of the extraction tests from the end product (ng PFO/cm ² end product)
Industrially cleaned carpeting	30 to 80	0.2 to 0.6	< 0.2 to 23 (<i>n</i> = > 60)
Carpeting treated with carpet care product	1 to 50	0.2 to 2	28 to 50 (<i>n</i> = 14)
Treated clothing	< 1 to 40	< 0.02 to 1.4	< 0.01 to 12 (<i>n</i> = > 100)
Treated upholstered furniture	< 1	< 0.034	0.4 to 4 (<i>n</i> = 3)
Treated home textiles	< 1 to 40	< 0.02 to 1.4	not tested
Latex paint	50 to 150	0.02 to 0.08	not tested
Cleaning product	50 to 150	0.005 to 0.05	not tested

extraction tests and information about the composition of the products. Values from the study by Washburn et al. [47] are shown in Table 7.

Age-specific behavior was taken into account in order to assess the PFO exposure of consumers through contact with these products. A one-compartment model was chosen to determine the contribution of PFC-treated non-food products to the concentration of PFO in serum, and a dermal absorption coefficient of 1.0×10^{-5} per hour was adopted. The values obtained are hypothetical and are categorized as more typical exposure [MTE] or reasonable maximum exposure [RME] scenarios. An assumable daily total PFOA exposure via non-food articles for adults was estimated at 0.09 ng/kg BW (MTE). The maximum uptake of PFOA was estimated at 3.1 ng/kg BW (RME). According to this assessment, the exposure would drop by one or two orders of magnitude upon reaching adulthood because of the low frequency of hand-to-mouth transfer [15,47].

Exposure via indoor and outdoor air

Based on studies in Japan [48] and Canada [49], the EFSA determined the lifetime average daily dose [LADD] via ingestion, inhalation, and skin contact with contaminated house dust in interior rooms. The corresponding data are presented in Table 8. These calculations by the EFSA are based on mean PFC concentrations of 0.440 ng PFOS/kg and 0.380 ng PFOA/kg in house dust. The exposure to PFOS and

PFOA through inhalation was estimated at 0.022 ng/m³ and 0.019 ng/m³, respectively [15].

In a recent study by Kato et al. [50], 39 samples of house dust that had been collected in diverse countries worldwide in 2004 were tested for concentrations of 17 PFCs. Six of the compounds were detected in 70% of the samples tested. The highest mean values measured were for PFOS, PFBS, PFHxS, perfluorooctanesulfonamide ethanol [FOSE], 2-(*N*-ethyl-perfluorooctanesulfonamido) acetic acid (Et-PFOSA-AcOH), and 2-(*N*-Methyl-perfluorooctanesulfonamide) ethanol [Me-FOSE] [50]. The values are shown in Table 9.

Data have been published on the inhalation exposure to PFOS and PFOA for Norway, the UK, Japan, and North America. As a result of the large variability of the PFC concentrations in outdoor air, the EFSA calculated LADD values for 'high' and for 'low' PFC exposures via inhalation of outdoor air. The PFOS and PFOA concentrations of air and dust that were used as basis for calculation, as well as the LADD values, are shown in Table 10.

Consequently, the uptake of PFOS and/or PFOA from outdoor air, even assuming a high concentration of PFCs, amounts to less than 0.5% or 17%, respectively, of the contamination via indoor air and, in comparison to dietary uptake, would therefore appear to be negligible [15].

Table 8 PFOS and PFOA uptake via inside air (ng/kg BW/day; from EFSA [15])

Exposure source	PFOS uptake	PFOA uptake
Ingestion of house dust	0.57	0.49
Skin contact with house dust	0.36	0.31
Inhalation of house dust	0.006	0.005
→ LADD ^a	0.93	0.81

^aLADD, lifetime average daily dose.**Table 9 PFC concentrations in 39 samples of house dust (from Kato et al. [50])**

Substance	Mean value (μg/kg)
PFOS	480
PFBS	359
Et-FOSA-AcOH	244
Me-FOSE	219
FOSE	208
PFHxS	186

Table 10 PFOS and PFOA uptake via ingestion and inhalation of outdoor air (from EFSA [15])

Outdoor air contamination	Low uptake		High uptake	
	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA
In dust (µg/kg)	30	400	100	4000
In air (ng/m ³)	0.001	0.003	0.01	0.3
→ LADD (ng/kg BW/day)	0.00069	0.0063	0.0041	0.14

Fromme et al. [38] summarized human exposure to PFCs via outdoor and indoor air in western countries. A comparison of the various PFCs in outdoor air shows that the levels of FOSE or FOSA, PFOS, and PFOA concentrations decrease according to the sequence city, country, and outlying regions. Furthermore, there appears to be a north-south gradient since the maximum 8:2 FTOH concentrations were 0.19 ng/m³ in the northern hemisphere and 0.014 ng/m³ in the southern hemisphere. In addition, it must be assumed that there are seasonal variations in PFOS and PFOA concentrations in outdoor air. Samples taken in the spring contained higher concentrations of PFCs than samples from the winter. [38].

Total exposure

The individual pathways of exposure according to EFSA [15] and Fromme et al. [38] are summarized, and the resulting total exposure to PFCs is calculated in Table 11. The calculated total exposure according to the data of the EFSA [15] and Fromme et al. [38] are of the same order of magnitude for PFOA. For PFOS, the total exposure derived from the data of the EFSA [15] is significantly higher than the result obtained using the data from Fromme et al. [38]. This resulted from the higher values for dietary exposure according to the EFSA [15]. According to this assessment, exposure via drinking water and outdoor air appear to be insignificant, barring special sources of contamination.

Fromme et al. [51] initiated a study, the Integrated Exposure Assessment Survey [INES] in which PFC

concentrations in foods, indoor air, and house dust were correlated with concentrations in blood. The blood concentrations of the 48 INES participants varied between 4.9 to 55.0 µg/L for PFOS and 2.7 to 19.1 µg/L for PFOA. Further details have not yet been published since the study is ongoing.

Zhang et al. [52] took a different approach. The daily uptake, calculated from blood concentrations using a one-compartment model, was found to agree closely with the daily PFOS uptake via food and house dust (0.74 vs. 1.19 ng/kg BW for men and 1.2 vs. 1.15 ng/kg BW for women) [52].

Pre- and postnatal exposures

PFC exposure of the fetus (prenatal) and nursing infants (postnatal) has also been shown in studies of mother-child pairs.

Prenatal exposure

PFOS was detected in cord blood samples in studies from Northern Canada, Germany, Japan, the USA, Canada, and Denmark [37,53-57]. This also applies to PFOA, with the exception of the Japanese study [54]. Thus, PFCs are considered to cross the placental barrier. This was also shown in animal studies [58].

In the northern Canadian study, the mean PFOS- and PFOA-cord blood concentrations in humans were 17 µg/L and 3.4 µg/L, respectively. In the other studies, the values were from 3 to 7 µg/L for PFOS and 1.6 to 3.4 µg/L for PFOA. In the German study, PFOS concentrations in cord blood were reported to be lower than the mother's blood by a factor of 0.6 (7.3 µg/L vs. 13 µg/L). By contrast, however, the PFOA concentrations were a factor of 1.26 higher in cord blood than in the mother's blood (3.4 µg/L vs. 2.6 µg/L) [53].

Inoue et al. [54] also compared PFOS concentrations in the mother's blood with the cord blood of the fetus. The concentration in the maternal blood varied from 4.9 to 17.6 µg/L, whereas the cord blood concentration had a PFOS level of 1.6 to 5.3 µg/L. A strong correlation

Table 11 Estimate of total PFC uptake for adults (ng/kg BW/day)

Source of contamination	EFSA [15]	Fromme et al. [38]	EFSA [15]	Fromme et al. [38]	Fromme et al. [38]	Fromme et al. [38]
	PFOS	PFOS	PFOA	PFOA	FTOH	FOSE/FOSA
Diet	60 to 200	1.5 to 4.48	2 to 6	2.82 to 11.5	n.r.	0.217-6.87
Fish	45 to 58	n.r.	1.7 to 2.1	n.r.	n.r.	n.r.
Drinking water	0.24	0.023 to 0.130	0.31	0.022 to 0.087	n.r.	n.r.
Indoor air + house dust	0.93	0.0047 + 0.032 to 4.22	0.81	0.0009 + 0.016 to 1.03	0.038 to 0.105 + 0.103 to 1.02	0.460 to 2.05 + 0.983 to 2.03
Outdoor air	0.001 to 0.004	0.0001 to 0.001	0.006 to 0.14	0.001 to 0.012	0.003	0.001 to 0.012
Total uptake	60.9 to 200	1.56 to 8.84	2.82 to 6.95	2.86 to 12.6	0.144 to 1.13	1.66 to 10.9

n.r., Not reported.

was found between the PFOS concentration in the mother's blood and in cord blood ($r^2 = 0.876$). In this study, PFOA was only found in the mother's blood [54].

Monroy et al. [56] also made comparative measurements of PFC concentrations in mother's blood ($n = 101$) in the 24th to 28th week of gestation and at the time of birth as well as in cord blood ($n = 105$). These authors established higher PFOS concentrations in the mother's blood during pregnancy than at the time of birth. PFOS concentrations in cord blood were lower than those in the mother's blood samples.

Fei et al. [57] also examined PFOS and PFOA concentrations in the blood of women during the first trimester ($n = 1,400$) and during the second trimester ($n = 200$) of pregnancy. They also analyzed cord blood ($n = 50$) after birth. The values from these last two studies are shown in Figure 1.

Postnatal exposure

The presence of PFOS and PFOA in human breast milk was demonstrated in studies from Sweden [59] and China [60], among others. The PFC concentrations measured in these studies were similar. In another study by Völkel et al. [61], PFOS and PFOA concentrations were also determined in 57 human milk samples from Germany and 13 samples from Hungary. The PFOA concentrations measured in this study (0.201 to 0.46 $\mu\text{g/L}$) were

similar to those reported by So et al. [60] and Kärman et al. [59]. Only 11 PFOA values were greater than the LOD of 0.2 $\mu\text{g/L}$. In the Swedish study, the same problem emerged, whereby only one sample contained concentrations greater than the blank level of 0.209 $\mu\text{g/L}$.

In 24 pooled samples of human milk (1,237 individual samples) obtained in the year 2007 from 12 provinces of China, Liu et al. [62] measured PFOS concentrations of 0.049 $\mu\text{g/L}$ (mean) and for PFOA, 0.035 $\mu\text{g/L}$. The concentrations of PFCs varied greatly between different geographic regions. High concentrations of PFOA were measured in Shanghai (0.814 $\mu\text{g/L}$ in rural areas and 0.616 $\mu\text{g/L}$ in urban areas) [62].

PFOS and/or PFOA concentrations measured in human milk samples by Kärman et al. [59], So et al. [60], Völkel et al. [61] and Liu et al. [62] are shown in Table 12.

Using the data from the Swedish study, for example, an infant who weighs 5 kg and drinks 800 mL human milk per day would have a daily uptake of 0.048 to 0.38 μg PFOS and 0.17 to 0.39 μg PFOA [15]. If the data from Shanghai are used, the infant would ingest more PFOA (consumed volume = 742 mL/day, BW = 6 kg) amounting to 0.088 $\mu\text{g/kg}$ BW [62], thereby nearly reaching the TDI of 0.1 $\mu\text{g/kg}$ BW/day recommended by the German Drinking Water Commission.

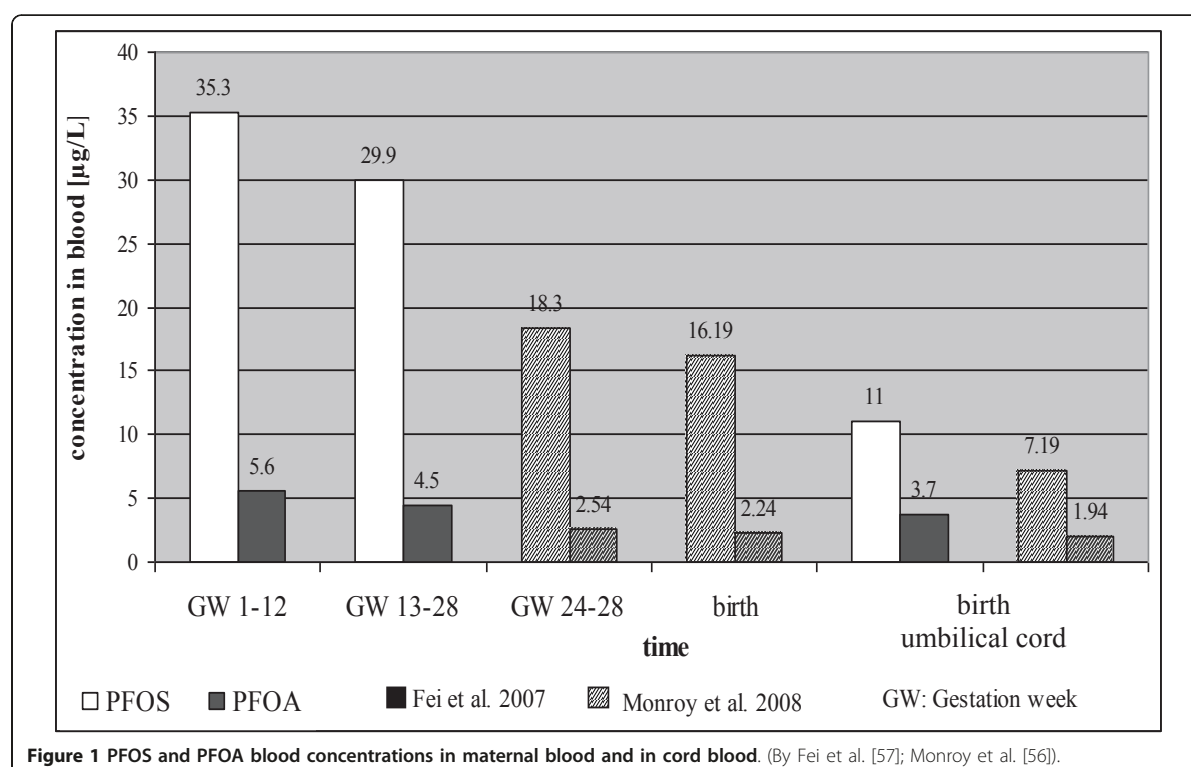


Table 12 PFOS and PFOA concentrations (µg/L) of human breast milk

Substance	Sweden	China		Germany
	Kärman et al. [59]	So et al. [60]	Liu et al. [62]	Völkel et al. [61]
PFOS	0.06 to 0.47 0.201 (arithmetic mean)	0.045 to 0.36 0.121 (arithmetic mean)	0.049 (median)	0.028 to 0.309 German samples 0.096 to 0.639 Hungarian samples
PFOA	< 0.209 to 0.492	0.047 to 0.21 0.106 (arithmetic mean)	0.035 (median)	0.201 to 0.46

It can be seen in the study by Kärman et al. [59] that the mean PFOS concentration of 0.201 µg/L in human milk is correlated with the serum PFOS concentration of 20.7 µg/L ($r^2 = 0.7$), reaching a level of about 1% of the serum concentration. A similar and even stronger correlation ($r^2 = 0.8$) was also determined for PFHxS (milk 0.085 µg/L, serum 4.7 µg/L). The total concentration of PFCs was 32 µg/L in serum and 0.34 µg/L in milk. The authors calculated a PFC uptake of about 0.2 µg/day for infants. The PFOS and/or PFHxS concentrations in human milk samples that had been obtained between 1996 and 2004 showed little variation throughout that time period, providing no evidence of a possible temporal trend [59].

Tao et al. [63] analyzed PFC concentrations in human milk samples from various Asian countries. The PFOS concentration varied between 0.039 µg/L in India and 0.196 µg/L in Japan. The mean PFHxS concentrations ranged from 0.006 µg/L (Malaysia) to 0.016 µg/L (Philippines). The mean PFOA concentration in Japan was 0.078 µg/L. In addition, the average PFC uptake of nursing infants from seven Asian countries was compared to the dietary uptake values from adults in Germany, Canada, and Spain. The PFOS uptake of nursing infants (11.8 ± 10.6 ng/kg BW/day) was 7 to 12 times higher, and the PFOA uptake (9.6 ± 4.9 ng/kg BW/day) was 3 to 10 times higher than the dietary exposure of adults to these substances [63].

Llorca et al. [64] also analyzed human milk samples for PFC contamination. The milk samples, from donors living in Barcelona, Spain, were all from at least 40 days after birth. PFOS and perfluoro-7-methyloctanoic acid were detected in 95% of all samples. Concentrations of 0.021 to 0.907 µg/L PFOA were measured in 8 out of 20 human milk samples. According to this study, infants ingest 0.3 µg PFCs/day while nursing [64].

According to the results of these studies, nursing contributes to PFC exposure of infants. The mechanism by which these compounds pass from the mother's blood to the milk is not fully understood. Bonding to proteins would appear likely [38,65].

PFC contaminations of infant formulas were examined in two studies. Tao et al. [63] detected PFC concentrations above the LOD in only a few cases^a. Llorca et al. [64] found six PFCs in all baby formulas of various

brands as well as in baby cereals. Elevated concentrations (as high as 1.29 µg/kg) of perfluorodecanoic acid [PFDA], PFOS, PFOA, and perfluor-7-methyloctanoic acid were detected. Contamination of baby food is likely the result of migration of the compounds from the packaging or containers used during production [64].

Human internal contamination

Taves [66] and Shen and Taves [67] were the first to show the presence of organic fluorides in human blood. Until the 1990s, however, the presence of these compounds was not considered of importance. Only since 1993 have PFC concentrations in the serum of exposed workers been the subject of study. The PFOS concentrations in the serum were found to be between 1, 000 and 2, 000 µg/L. Data on serum concentrations in the general population have only been available since 1998. These values were approximately 100 times lower than in occupationally exposed workers [15,68,69].

The plasma to serum ratio for PFHxS, PFOS, and PFOA is 1:1, independent of the concentration, whereas the ratio of serum or plasma to whole blood was stated to be 2:1. This indicates that the PFC concentration in whole blood is only 50% of the concentration in plasma and/or serum. The difference is the result of the distribution volume of red blood cells in the samples since fluorochemicals are neither found intracellularly nor bound to the red blood cells [70].

Kannan et al. [71] examined 473 blood/serum/plasma samples from people of various countries. Of the four PFCs measured (PFOS, PFHxS, PFOA, FOSA), PFOS was quantitatively the dominant component in blood. The highest PFOS concentrations were detected in samples from the USA and Poland (> 30 µg/L). In Korea, Belgium, Malaysia, Brazil, Italy, and Colombia, blood PFOS concentrations were in the range of 3 to 29 µg/L. The lowest PFOS concentrations were measured in samples from India (< 3 µg/L). In this study, the PFOA concentrations were lower than the values for PFOS, except in India and Korea. The joint occurrence of the four PFCs varied according to the country of origin of the samples. This suggests differences in the exposure pattern in the individual countries [71].

Kärman et al. [72] measured plasma PFOS concentrations from residents of Australia, Sweden, and the UK

with levels of 23.4 µg/L, 33.4 µg/L, and 14.2 µg/L, respectively. Ericson et al. [73] determined average values of 7.64 µg PFOS/L and 1.8 µg PFOA/L in blood samples from the Spanish population [15].

Calafat et al. [74], within the framework of the National Health and Nutrition Examination Surveys [NHANES] from 1999 to 2000, also examined serum samples from the US population for concentrations of 11 different PFCs. The group of 1, 562 participants in the study was made up of male and female subjects, three ethnic groups, and four age categories (12 to 19 years, 20 to 39 years, 40 to 59 years, 60 years and older). Consequently, these data are representative of the exposure of the US population to PFCs. PFOS, PFOA, PFHxS, and FOSA were detected in all serum samples [74]. The values are presented in Table 13.

Wilhelm et al. [75] took three biomonitoring studies as a basis to arrive at a reference value for PFOA and PFOS in the blood plasma of the general population in Germany. Two studies were carried out in southern Germany [76,77] and one in North Rhine Westphalia [19]. Although these studies are not representative of the general population of Germany, they present the best basis for deriving a reference value for internal contamination with PFOS and PFOA. Based on the 95th percentile, the following reference values were suggested: for PFOA, 10 µg/L for all groups and for PFOS, 10 µg/L for children of school age, 15 µg/L for adult women, and 25 µg/L for men [75].

The mean PFOA concentration in the blood for the European population is within the region of 4 to 20 µg/L; their mean PFOS serum concentration is within the range of 4 µg/L (Italy) and 55 µg/L (Poland). PFOS is the quantitatively dominant component of PFCs in all of the blood samples measured worldwide. In general, PFOA concentrations in serum are lower than concentrations of PFOS [15].

Olsen et al. [69] determined the PFOS concentrations in serum to be 6.1 to 58.3 µg/L and in human liver, 4.5–57 µg/kg ($n = 31$). The mean liver to serum ratio for PFOS concentration was 1.3:1. Liver to serum ratios could not be established for PFOA, PFHxS, and FOSA because 90% of the concentrations of these substances were below the LOD^a [69].

Kärman et al. [78] analyzed blood samples from 66 Swedish study participants. Concentrations of 12 PFCs were determined (PFBS, PFHxS, PFOS, perfluorooctanesulfonamido acid, FOSA, PFHxA, PFOA, perfluorononanoic acid [PFNA], PFDA, perfluoroundecanoic acid [PFUnA], perfluorododecanoic acid [PFDoA], perfluorotetradecanoic acid [PFTDA]) along with the concentrations of other 'traditional' persistent organic pollutants [POPs]. The mean concentrations of PFCs in whole blood were 20 to 50 times higher than the total concentrations of polychlorinated biphenyls [PCB] and p, p'-dichlorodiphenyldichloroethylene. Similarly, the PFC concentrations were 300 to 450 times greater than for hexachlorbenzene and the sum of the six chlordanes and the three polybrominated diphenyl ethers. However, the PFCs and the POP that were measured behaved differently in regard to their distribution in the body, making an additional comparison of total body contamination necessary. PFCs are mainly found in the blood and the liver, whereas polychlorinated and polybrominated POPs are chiefly present in the fat tissue and blood lipids. The reason for these differences appears to be related to the different basic structures and the binding behavior in blood of these substances [40,79,80]. Whole blood contains about 0.5% blood lipids, and thus represents only a small part of the total body contamination of PCB for example. The total body contamination was calculated using the proportionate weights of the main distribution tissues. This analysis showed a similar total body contamination for PFCs and for the POP that had been analyzed to be about 1.6 mg PFOS and 1.7 mg for PCB153, one of the most abundant individual PCB congeners [72].

Gender and age-dependent differences

No correlation between the PFOS concentration and age or gender were found in studies by Olsen et al. [69] on US citizens or in the studies by Kannan et al. [71]. Data of Calafat et al. [74,81] show significantly higher PFOS and PFOA concentrations in men than in women; however, an age-related difference was not found. Harada et al. [82] reported higher PFC serum concentrations in Japanese men than in women, and in addition, they also reported a rise in PFC serum concentrations in women with increasing age so that by age 60, the concentrations in women were comparable to those in men. The situation was similar for PFOA [82].

Kärman et al. [83] determined a rise in PFOS serum concentrations with increasing age. PFOS, PFOA, and PFHxS concentrations in blood were also higher in men than in women. Ericson et al. [73] confirmed higher PFHxS and PFOA concentrations in blood of male subjects. Concentrations were significantly different between age groups 25 ± 5 years (18 participants) and 55 ± 5 years (30 participants) only for PFHxS and FOSA

Table 13 PFOS and PFOA serum concentrations (µg/L) of the US population (from Calafat et al. [74])

Substance	10th Percentile	50th Percentile	95th Percentile
PFOS	15.1	30.2	75.6
PFOA	2.8	5.1	11.9
PFHxS	0.8	2.1	8.7
FOSA	< 0.1	0.3	1.4

($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively). The group of younger participants (25 ± 5 years) presented higher PFHxS values and lower FOA values than did the older participants [73].

Rylander et al. [84] also registered higher concentrations of PFOS, PFOA, PFHxS, and PFHpS in male Norwegian participants than in women. Here, also increasing concentrations of PFOS, PFHxS, and PFHpS were observed with increasing age.

A study of 245 blood samples of donors from China showed that lower concentrations of PFOS were detected in infants, young children, children, and adolescents (2.52 to 5.55 $\mu\text{g/L}$) than in adults (8.07 $\mu\text{g/L}$), and correlations of PFOS ($r = 0.468$) and PFHxS ($r = 0.357$) with age were reported. In contrast, PFOA concentrations in blood of the children and adolescents were higher (1.23 to 2.42 $\mu\text{g/L}$) than in adults (1.01 $\mu\text{g/L}$), showing a negative correlation with age ($r = -0.344$). The composition of the PFC concentration profiles also varied between age groups, suggesting different sources of exposure. Gender specific differences in PFC concentration could not be determined in any of the groups [52].

Fromme et al. [77] carried out a study of PFC concentrations in blood of participants in Germany. Concentrations of PFOA and PFOS were measured in 356 blood plasma samples. The mean values of 10.9 $\mu\text{g/L}$ PFOS and 4.8 $\mu\text{g/L}$ PFOA were determined for women. The values for men were higher (13.7 $\mu\text{g/L}$ PFOS and 5.7 $\mu\text{g/L}$ PFOA). Higher blood PFC concentrations correlated with increasing age in students; however, this correlation was only statistically significant for female students [77]. A second German study also confirmed age as having an effect on PFC concentrations in plasma. The age of men correlated positively with the plasma concentrations of PFOS, PFOA, and PFHxS. In the case of women, this was only true for PFOA [19]. In a US American study, the mean PFOS and PFHxS concentrations were significantly lower in participants who were younger than 40 years than in the group over 40 years [85]. The values from this study are shown in Table 14.

According to the EFSA [15], none of the studies included show a clear difference in relationship to PFOS and/or PFOA serum concentrations in relation to age or gender of the participants. Fromme et al. [38] had come

to the conclusion, however, that the majority of the studies show gender-specific differences in serum concentrations of PFOS and PFOA. In regard to age dependency, however, they agree with the EFSA [15] that there is no significant correlation between age and PFC blood concentrations although it must be assumed that these compounds accumulate in the body over time.

Since human biomonitoring studies showed higher PFOS blood concentrations for men than for women, Liu et al. [62,86,87] investigated the effect of pregnancy, menstruation, and periodic exposure to PFOS concentration in the blood of mice. The animals received 50 $\mu\text{g/L}$ PFOS in their drinking water. Pregnancy or menstruation led to lower PFOS concentrations in the blood. Every additional individual exposure to PFOS increased the concentration of the substance in blood.

Geographic and ethnic differences

Geographical differences have been detected in the PFOS and PFOA concentrations in serum of blood donors in diverse countries. Kannan et al. [71] reported differences in the occurrence of PFOS and PFOA among blood donors in nine different countries. Harada et al. [82] detected differences in the PFOS and PFOA serum concentrations for both genders in Japan. The concentrations of PFOS and PFOA in blood measured in Germany were lower than the values from a study in the USA and Canada [77].

Fromme et al. [38] came to the conclusion that serum concentrations of the US population are higher than those of inhabitants of Europe, Asia, or Australia. The same is true of PFHxS [38] (Table 15).

Concentrations of 29 $\mu\text{g/L}$ PFOS, 3.9 $\mu\text{g/L}$ PFOA, 0.5 $\mu\text{g/L}$ PFHxS, 0.8 $\mu\text{g/L}$ PFNA, and 1.1 $\mu\text{g/L}$ PFHpS (mean values) were detected in 95% of all blood samples from Norwegians [84]. In another Norwegian study of 315 women, concentrations of 20 $\mu\text{g/L}$ PFOS, 4.4 $\mu\text{g/L}$ PFOA, 1.0 $\mu\text{g/L}$ PFHxS, and 0.81 $\mu\text{g/L}$ PFNA were found in 90% of the plasma samples [88].

Kärman et al. [83] did not find a difference in PFC serum concentrations for participants from rural or urban regions of Australia. Mean values for PFOS (20.8 $\mu\text{g/L}$), PFOA (7.6 $\mu\text{g/L}$), and PFHxS (6.2 $\mu\text{g/L}$) measured in this study were similar to the values determined for

Table 14 PFOS, PFOA, and PFHxS concentrations in blood ($\mu\text{g/L}$) according to age group

Substance	< 40 years	40 to 60 years	> 60 years
PFOS	24.8/33.3	31.7/33.6	35.3/35.1
PFOA	2.2/5.3	2.4/5.5	2.4/6.0
PFHxS	0.7/1.8	1.9/2.5	2.2/3.0

Values from 1974/1989 of Olsen et al. [85].

Table 15 Serum and plasma PFC concentrations ($\mu\text{g/L}$) according to geographical origin of participants

Substance	US population	EU population	Asian population
PFOS	656	1 to 116	n.r.
PFOA	88	0.5 to 40	n.r.
PFHxS	< 0.4 to 712	< 0.4 to 40	0.1 to 20.9

Adapted from Fromme et al. [38]; n.r., not reported.

serum concentrations in Europe and Asia, or higher, but lower than in the USA.

In an African study, concentrations of 1.6 µg/L PFOS, 1.3 µg/L PFOA, and 0.5 µg/L PFHxS were measured in the blood of mothers who were tested. Fifty eight percent of the PFOS molecules present were in the linear form. The highest PFC concentrations were detected in the blood of people from urban and semi-urban regions, which are areas with the highest quality of living conditions [89].

Hemat et al. [90] determined a lower internal PFC contamination of people in Afghanistan. PFOS concentrations of 0.21 to 11.8 µg/L were detected in blood, and PFOA and PFHxS concentrations were below the LOD of 0.5 µg/L. In drinking water, as well, PFOA or PFOS concentrations were not detected at levels above the LOD (0.03 and 0.015 µg/L). The studies cited here are shown in Figure 2.

The study of Kannan et al. [71] in which samples were obtained from nine different countries showed differences in levels of PFOS in relation to the country of the donors. The US study [91] showed that non-Hispanic whites had statistically significantly higher concentrations of PFOS than both non-Hispanic blacks and Mexican Americans; Mexican Americans had statistically significantly lower concentrations than non-Hispanic

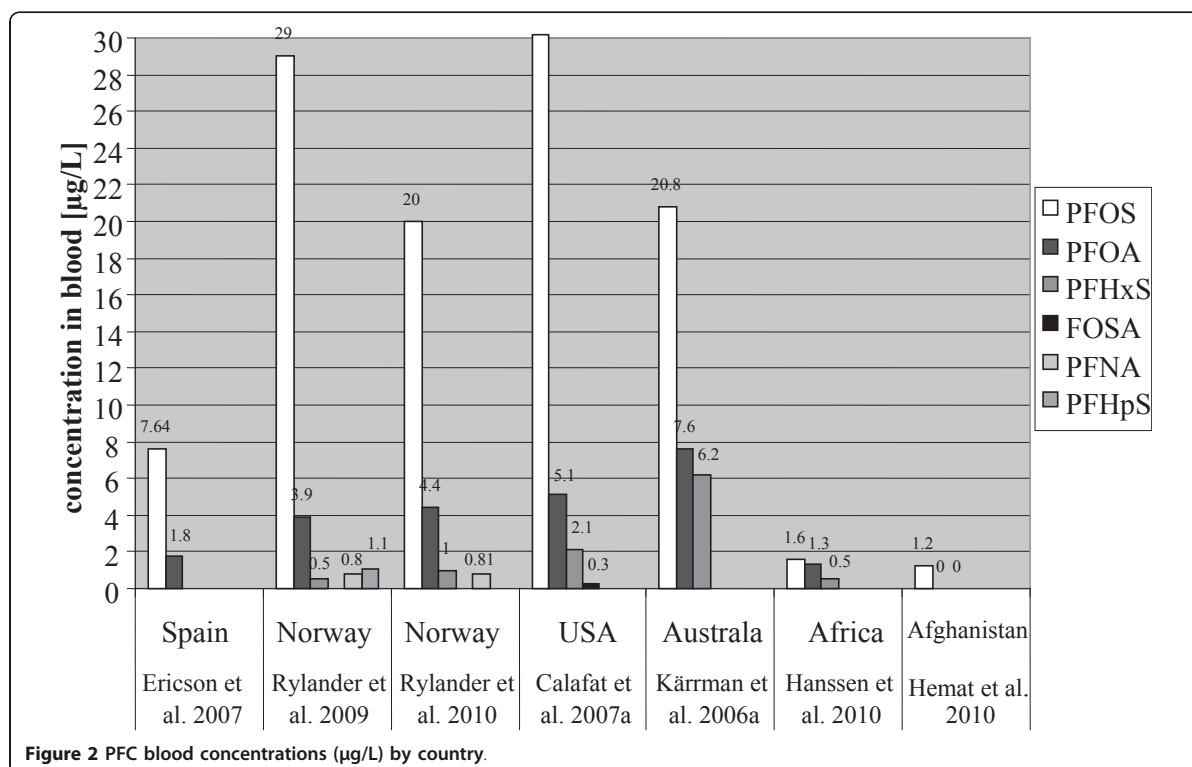
blacks. Genetic variability, diet, lifestyle, or a combination of all these factors may contribute to the different patterns of human exposure to PFOS observed among the population groups [15].

Dietary influences

A Swedish study in which samples of blood from 108 women were analyzed showed a correlation between increased consumption of predatory fish (pike, perch, zander) and PFOS concentration in the blood. This correlation could not, however, be shown for total fish consumption or for other groups of foodstuffs ([92] cited in EFSA [15]). A Polish study established a correlation between increased fish consumption and the highest serum concentrations measured in 45 test candidates for 10 fluorochemicals (including PFOS and PFOA) [93].

In a study of 60 participants in Norway, Rylander et al. [84] determined significantly lower concentrations of PFOS and PFOA in the blood of candidates who stated that they had consumed 150 g of vegetables and fruits per week over the past year. In contrast, an increase consumption of oily fish (150 g/week) led to significantly higher concentrations of these substances in the blood.

In another study, Rylander et al. [88] examined blood from 315 Norwegian women between the ages of 48 and 62 years. Participants who consumed larger



amounts of fish had higher PFOS, PFNA, and PFHxS concentrations in their blood than did younger women with larger households and a more western diet of rice, pasta, water, white and red meat, chocolate, snacks, and pastry. No specific cluster of foods could be correlated with higher PFOA blood concentrations [88].

Time trends

A study of 178 US serum samples shows an increase in PFOS and PFOA concentrations between 1974 and 1989. The mean values of serum concentrations of PFOS, PFOA, and PFHxS from 1974 and 1989 are shown in Table 16. Serum samples collected in 2001 did not show any further increase in PFC concentrations [69,85].

A Japanese study established an increase in PFOS and PFOA concentrations in serum samples over the last 25 years. PFOS concentrations increased by a factor of 3, and PFOA concentrations by as much as a factor of 14 [82].

A continual increase in PFOA and PFOS over time was also shown in a Chinese study in which serum samples from 1987, 1990, 1999, and 2002 were analyzed [94]. The changes in serum concentrations over time as shown in this study are presented in Figure 3.

On the other hand, another study showed the decline of serum concentrations of PFOS by 32%, of PFOA by 25%, and of PFHxS by 10% (data from the NHANES from 1999 to 2000). These changes can probably be attributed to the change in production of PFOS and perfluorooctane sulfonylfluoride compounds. The PFNA concentrations increased by 100% [95]. These values are also shown in Table 16. The concentrations listed by Olsen [69,85] are mean values, while those from Calafat et al. [95] are geometric mean values, making a comparison of the results difficult or impossible.

Studies from the Sauerland region of Germany show constant PFOS and PFOA concentrations between 1997 and 2004; however, the plasma concentrations of PFHxS have risen continuously since 1977 [21].

Differences dependent upon the isomery of the compounds

Studies have shown that the linear form of PFOS [L-PFOS] is more plentiful than the branched isomers in the human serum and plasma samples. L-PFOS was seen to account for 58% to 70% of the total PFOS in samples from Australia, 68% from Sweden, and 59% from the UK. The disparities are presumably the result

of different sources of exposure in the various countries. For example, a standard PFOS product produced by electrochemical fluoridation [ECF] consists of 76% to 79% L-PFOS [72].

A study by De Silva and Mabury [96] showed that 98% of the PFOA in the serum of the participants was linear PFOA [L-PFOA], so only 2% was present in the branched form. The same is true of PFNA and PFUnA. A standard PFOA product produced by ECF consists of 80% L-PFOA. The high proportion of L-PFOA in serum can probably be attributed to the exposure and metabolism of FTOH and alkanes [38].

Toxicology of perfluorinated compounds

Toxicokinetics of perfluorinated compounds

Uptake

Data from animal experiments show that PFC uptake can occur by oral, inhalation, or dermal exposure [97-102].

Oral uptake of PFOS and PFOA results in rapid and almost complete assimilation. Ninety five percent of the radioactively labeled PFOS dose (4.3 mg/kg BW) and 93% of the labeled PFOA-dose (11 mg/kg BW) were resorbed by male rats within 24 h. The authors found 5% and 7% of the total radioactivity in feces and in the digestive tract and concluded that the remainder is the resorbed portion. These resorption data are from Gibson and Johnson [97] and were determined using ¹⁴C-labeled PFOS and PFOA [17].

After 10 inhalations of 84 mg/m³ APFO, a mean concentration of 108 mg/L was measured in the blood of male rats. The APFO blood concentration declined to 0.84 mg/L 84 days after the treatment [100].

Uptake via dermal exposition appears to be somewhat weaker [101]. A study by Kennedy [99] showed a dose-dependent increase in blood concentration of organofluoro compounds in rats after dermal application of APFO. The subchronic dermal treatment with 2,000 mg APFO/kg resulted in blood concentrations of 118 mg/L.

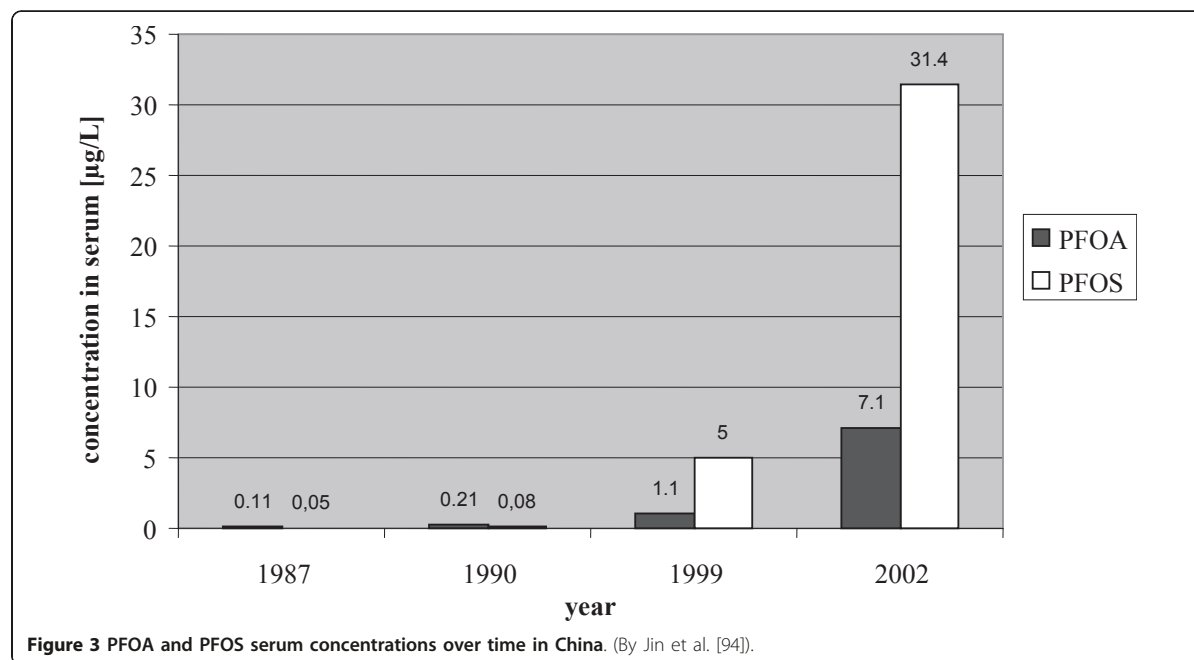
In rats, an uptake of 8:2 FTOH via the skin was relatively low. After 6 h of exposure, 37% of the substance evaporated or was removed by washing. The evaporated portion was trapped by a device attached to the skin and was consequently analyzed. The treated area of skin was washed with a soap-ethanol mixture, and the 8:2 FTOH concentration in the solvent was measured. In these experiments, a single 8:2 FTOH dose of 125 mg/kg^c in 0.5% methyl cellulose was applied. The 8:2 FTOH was labeled with ¹⁴C (3-¹⁴C 8:2 FTOH) and applied to the shaved area of skin (10 µL/cm²) [102].

Distribution

PFOS and PFOA are weakly lipophilic, very water soluble, and bind preferentially to proteins. The principle

Table 16 PFC concentration in blood (µg/L) by year

Substance	Olsen et al. [69,85]			Calafat et al. [95]	
	1974	1989	2001	1999 to 2000	2003 to 2004
PFOS	29.5	34.7	35.8	30.4	20.7
PFOA	2.3	5.6	4.7	5.2	3.9
PFHxS	1.6	2.4	1.5	2.1	1.9



binding partner is albumin [61,103]; however, it also binds to β -lipoproteins or fatty acid binding proteins in the liver [L-FABP] [104].

Approximately 90% to 99% of the perfluorinated carboxylic acids in the blood are bound to serum albumin [103,105]. The chain length and the functional group of the PFCs have an influence on the preferential binding site and binding affinity [80]. PFCs have the same binding site and a similar affinity to serum albumin as fatty acids [80].

Qin et al. [106] used spectrometry to determine the influence of the length of the carbon chain of perfluorinated carboxylic acids on the binding to bovine serum albumin. They determined that the binding strength increased with the increasing chain length of the perfluorinated compound. The changes in enthalpy and entropy indicate that Van-der-Waals' forces and hydrogen bonds are the dominant intermolecular forces [106]. Bischel et al. [79] also confirmed the high affinity interactions between perfluorinated compounds and serum albumin, in particular at low molar ratios. PFOS and PFOA are primarily extracellular and accumulate primarily in the liver, blood serum, and kidneys. Small amounts of the substances are found in other tissues as well. According to studies by Austin et al. [107] and Seacat et al. [108], the liver to serum ratio for PFOS is about 2.5. PFOS and PFOA were also found primarily in the liver and kidneys of chickens [109] and Han et al. [110] found an active uptake mechanism for PFO (the anion of PFOA) in rat hepatocytes.

In addition, differences in distribution patterns may be dose dependent. In experiments with rats, Kudo et al. [111] found that 2 h after a single intravenous injection of low-dosage PFOA (0.041 mg/kg BW), a larger proportion of the substance is found in the liver (52%) than with a higher dosage (27% for a dosage of 16.56 mg/kg BW). Apparently, PFOA is distributed to the blood or other tissues as soon as the level in the liver reaches 4 mg/kg. The study does not provide an immediate explanation of these results; however, a dose-dependent difference in intracellular distribution between the membrane fraction and the cytosol was observed for the two different dosages of 0.041 mg/kg BW and 4 mg/kg BW. Injection of the higher dosage resulted in PFOA primarily in the cytosolic fraction. If the liver concentration remained under 4 mg/kg, PFOA was found almost completely in the membrane fraction with a remainder of 3% in the cytosol. Kudo et al. [111] concluded that this indicates a preferred bond of PFOA to membrane components that are not unlimitedly available. As a consequence, higher dosages of PFOA are distributed in the blood or other tissues. Elimination via the bile rose with higher doses were administered, suggesting transport of unbound PFOA from the cytosolic fraction of the cell to the bile. A biliary elimination rate of 0.07 mL/hr/kg BW was determined^d. The rate of elimination rose in a dose-dependent manner; however, the differences of the rates between the administered doses were not significant [111].

Tan et al. [112] discovered differences in distribution patterns dependent upon the perfluorinated compound,

species (rat or monkey), and gender. PFOS, probably because of its higher liver to blood distribution coefficient, seemed to remain in the tissue longer than PFOA. The maximal transport capacity of renal resorption in monkeys was 1, 500 times greater than that of rats, and the clearance of renal filtrate in the central compartment was about 10 times greater. Male rats showed a slower renal elimination of PFOA than female animals; however, low PFOA concentrations ($< 0.1 \mu\text{g/mL}$) were eliminated at a similarly slow rate by females [112].

In addition, Liu et al. [113] studied age-dependent differences in the toxicokinetics of PFOS in mice. The concentrations and distribution ratios of PFOS in the blood, brain, and liver of mice after a single subcutaneous application of 50 mg PFOS/kg BW differed significantly between the individual postnatal developmental stages. With increasing age, the differences became more evident. Gender-specific differences were greater in older mice. A study demonstrated the following distribution pattern of FTOH:

Four to seven percent of the ^{14}C -labeled 8:2 FTOH was recovered in the tissue of rats 7 days after oral applications (125 mg/kg), principally in the fat, liver, thyroid, and adrenal tissues [102]. PFCs are also distributed in the milk and via the placenta, as described in the 'Pre- and postnatal exposures' section.

PFOS could also be detected in the livers of rat fetuses [114]. Additionally, on the basis of studies of rats, it was possible to estimate that the PFOA plasma concentration of the fetus amounts to half the steady state concentration in the plasma of the mother animal. In the transition of PFOA to the milk of the mother animal, the steady state concentration in the milk was 1/10 lower than the level in plasma ([58] cited in EFSA [15,115]). Peng et al. [116] determined that the ratio of concentrations in the eggs of sturgeons to the concentration in the liver of the mother sturgeon was 0.79 for PFOA and 5.5 for perfluorotridecanoic acid.

Contamination with PFOA may have also resulted from corresponding precursor substances. It has, for example, been demonstrated that PFOA can be formed from FTOH [31,32]. Following a single dose of 30 mg/kg BW 8:2 FTOH on the eighth gestational day [GD] (GD 8) in mice, the PFOA concentrations in the fetus rose from $45 \pm 9 \mu\text{g/kg}$ (GD 10) to $140 \pm 32 \mu\text{g/kg}$ (GD 18). Furthermore, PFNA was also detected at a concentration of $31 \pm 4 \mu\text{g/kg}$ (GD 18). For the mice that were not contaminated with 8:2 FTOH *in utero*, but rather through nursing, concentrations of $57 \pm 11 \mu\text{g PFOA/L}$ were detected on the third and $58 \pm 3 \mu\text{g PFOA/L}$ on the 15th day after birth. This indicates that the progeny became contaminated with PFOA by nursing from the mother animal that had been exposed to FTOH [117].

Metabolism

As far as it is known, PFOS and PFOA are not metabolized in mammals. Thus, PFOA is not subject to defluorination nor to phase-II metabolism of biotransformation [101]. According to Fromme et al. [2], only FTOH comes into question regarding metabolism.

For example, Fasano et al. [102] could detect glucuronide and glutathione conjugates in the bile as well as perfluorooctanoate and perfluorhexanoate in excrements and in the plasma of male and female rats that had received a single oral dose of 5 and 125 mg/kg ^{14}C -labeled 8:2 FTOH. This implies that FTOH is metabolized and that a removal of CF_2 groups takes place.

Other studies have also shown possible formation of PFCA from FTOH [31,32,117]. It is generally assumed that oxidation of the alcohol group takes place to form fluorotelomer aldehyde, followed by oxidation to saturated fluorotelomer compounds (fluorotelomer saturated carboxylate [FTCA]). Butt et al. [118] examined in greater detail the biotransformation pathway for 8:2 FTOH in rainbow trout, in particular, from the metabolic intermediates 8:2 FTOH unsaturated carboxylate [FTUCA] and 7:3 FTOH saturated carboxylate [FTCA]. The authors administered these intermediates as well as 8:2 FTCA to the trout for 7 days and then identified the compound in the blood and liver for a further 10 days. Exposure to 7:3 FTCA resulted in lower concentrations of 7:3 FTUCA and perfluoroheptanoate (PFHpA) and did not result in an accumulation of PFOA. Furthermore, 8:2 FTCA and 8:2 FTUCA were generated. PFOA was formed when 8:2 FTCA and 8:2 FTUCA were administered. These results suggest a β -oxidation beginning with 8:2 FTUCA to 7:3 keto acid and 7:2 ketone for the PFOA formation [118].

The emerging metabolic products are often more toxic than the original substance itself. This was also shown for FTOH in a study by Martin et al. [119]. In tests in which isolated rat hepatocytes were incubated with FTOH of various chain lengths, the shortest (4:2 FTOH) and longest (8:2 FTOH) lengths showed a greater toxicity, in terms of the LC_{50} than did, e.g., 6:2 FTOH.

Treatment with 8:2 FTOH led to a decline in glutathione [GSH] levels and an increase in protein carbonylation and lipid peroxidation. The addition of aminobenzotriazol, an inhibitor of cytochrome P450, diminished the cytotoxicity of all tested FTOH and decreased protein carbonylation and lipid peroxidation of 8:2 FTOH. Preincubating the hepatocytes with hydralazine or aminoguanidine (a carbonyl trap with nucleophilic amino groups that form adducts with aldehydes) also reduced the cytotoxicity of 8:2 FTOH. Likewise, a GSH-reactive α/β -unsaturated acid which is a result from the metabolism proved more toxic than the corresponding FTOH compound. It can be concluded from

this that the toxicity of FTOH is the result of electrophilic aldehydes or acids, GSH decrease, and protein carbonylation [119].

Excretion

Since PFOS and PFOA cannot be metabolized by mammals, excretion is the only means by which the toxic activity of these compounds can be eliminated once they have been taken up by the body [17].

Measurements of PFC concentrations in urine and feces yielded an elimination half-life of more than 90 days for PFOS in rats. The half-life of PFOA is markedly shorter and exhibits gender-dependent differences, 2 to 4 h for female rats and 4 to 6 days for male rats [115].

Because of albumin binding of a large portion of PFCs in the blood, the glomerular filtration rate is low. However, an active excretory mechanism via transport proteins has been described in rats. This so-called organic anion transporter [OAT] (OATs 2 and 3) enables the uptake of PFOA from the blood by the proximal tubule cells in the kidneys [120]. The expression of OAT 2 and 3 in the kidneys correlates with the excretion of PFOA by rats and is presumably regulated by sex hormones. This may explain why female rats have excreted 91% of the applied dose of ^{14}C -labeled PFOA after 24 h via urine, while only 6% of the administered ^{14}C -labeled PFOA can be detected in the urine of male rats. An active excretory mechanism has not yet been described for PFOS ([121] cited in EFSA [15]).

Weaver et al. [122] confirmed the involvement of the basolateral OATs 1 and 3 in renal secretion of C7-C9 PFCA in rats. On the other hand, the apical organic anion transport polypeptide [OATP] 1a1 contributes to the reabsorption of C8-C10 PFCA in the proximal tubule cells of the rat, with the highest affinity to C9 and C10. The OATP 1a1 expression is heightened in the kidneys of male rats and might therefore also help explain the gender-specific differences in renal PFCA excretion.

Experiments by Johnson et al. [123] show the presence of an enterohepatic circulation of PFCs. Increased fecal excretion of ^{14}C -labeled PFOA and PFOS in rats was observed after multi-day administration cholestyramine *per os*, accompanied by a concurrent reduction in concentrations of the substances in the liver and plasma. Cholestyramine is an anion-exchange resin; it is not resorbed and carries PFOA and PFOS to the intestines to be excreted. The rates of excretion for PFOA and/or PFOS in rats that had received APFO (13.3 mg/kg) or the potassium salt of PFOS (3.4 mg/kg) intravenously were increased by 9.8 times and 9.5 times, respectively, after a 14- or 21-day administration of a 4% cholestyramine mixture in their feed [123].

Cui et al. [124] examined PFOS and PFOA excretions in male rats during a 28-day consecutive administration

of PFOS and PFOA. Urine was confirmed as the primary path of excretion of PFOS and PFOA in rats in this study. In particular, PFOA excretion rates were greater in urine than in feces. Within the first 24 h after the start of oral application of PFOA or PFOS, 24.7% to 29.6% PFOA and 2.6% to 2.8% PFOS of the oral dosage (5 and 20 mg/kg BW/day) were excreted in the urine and feces. The rate of excretion over this period of time increased with the increasing dosage. The higher rate of elimination indicates a lower accumulation capacity. The rapid, almost total uptake and relatively weak elimination of PFOA and PFOS facilitate the bioaccumulation in the body [124].

In experiments on chickens, Yoo et al. [109] determined a rate of elimination for PFOA six times higher than for PFOS. The authors administered 0.1 or 0.5 g/L PFOA or 0.2 or 0.1 g/L PFOS to the 6-week-old male chickens for 4 weeks. A 4-week excretion phase for PFOA and PFOS followed. The data from the study can be seen in Table 17[109].

In primates, the half-life of PFCs is longer than in other experimental animals such as mice and rats. The elimination half-life is 14 to 42 days in male or female cynomolgus monkeys after oral and intravenous applications. The PFOA concentrations after a 4-week oral application are shown in Table 18. Urine was the principal path of excretion for PFOA in monkeys [125].

In contrast, the half-life of PFOA in Japanese macaques is notably shorter (2.7 to 5.6 days) ([101] as cited by Harada et al. [126]). A half-life of 110 to 130 days was determined for nonhuman primates after a single, intravenous application [127].

The elimination half-time for PFOS in male cynomolgus monkeys was found to be about 200 days [128]. In addition to species-specific differences, the structure of the PFCs can also influence excretion.

Benskin et al. [129] administered a single dose of 500 $\mu\text{g/kg}$ BW PFOS, PFOA, and PFNA or 30 $\mu\text{g/kg}$ BW PFHxS to seven male Sprague-Dawley rats. Urine, feces, blood, and tissue samples were taken over the following 38 days, and PFC concentrations were determined by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectroscopy. It was found that all PFC branch-chained isomers had a lower half-time in the blood than the corresponding linear isomers. The only exception was the PFOS isomer that had an α -perfluoro methyl chain (1m-PFOS). This was probably less readily excreted than the linear isomer of PFOS due to spatial shielding of the hydrophilic sulfonate moiety. The authors therefore reasoned that the property of PFOS, PFOA, PFNA and PFHxS chain branching, in general, lowers the half-life in the blood and increases excretion rates. However, different kinetic data may arise depending upon gender, dosage, and species [129].

Table 17 Excretion of PFOS and PFOA by young chickens

Parameter	PFOS	PFOA
Excretion half-life	125 days	4.6 days
Residual blood concentration at the end of the 4-week excretion phase	48% to 52%	2% to 3%
Excretion rate constant	0.023% $\pm$ 0.004% per day	0.150% $\pm$ 0.010% per day

Excretion was after a 4-week exposure and a 4-week excretion phase (from Yu et al. [171]).

Part two of this study examined the same circumstances under the more realistic conditions of a sub-chronic exposure. PFCs were mixed with the feed and administered to male and female rats over a period of 12 weeks, followed by a 12-week excretion phase. The feed contained 0.5 μ g/g of the ECF products PFOA (approximately 80% linear), PFOS (approximately 70% linear), and PFNA (linear form and isopropyl-PFNA). Blood samples that were collected during the exposure phase showed a preferential accumulation of the linear form of PFOA and PFNA over the branched chain isomers. Thus, most of the branched chain PFCA isomers were more quickly eliminated than were the linear forms. No statistically significant differences in rate of elimination of branched chain or linear isomers of PFOS were found. Additional exceptions for two small ECF PFOA isomers and 1m-PFOS exist. In general, female rats excrete PFCs more rapidly than male rats [130].

Olsen et al. [131] studied the pharmacokinetic behavior of PFBS in rats, monkeys, and humans. Rats received an intravenous PFBS dose of 30 mg/kg BW and monkeys, a dose of 10 mg/kg BW. Serum and urine samples were collected from the animals following application of the substance. Human participants in the study were workers who were occupationally exposed to PFBS. The elimination half-life of PFBS can be seen in Table 19. PFBS is apparently excreted more rapidly than PFHxS and PFOS by rats, monkeys, and humans, whereby species specific differences were observed. This indicates, also for humans, that the capacity for accumulation of PFBS in serum is lower than for long-chain homologues. PFBS excretion for humans was shown to be via the urine [131].

Additional human PFC half-life values were calculated on the basis of serum concentrations from 26 workers

in the fluorochemical industry. The mean time was 5.4 years for PFOS, 3.8 years for PFOA, and 8.5 years for PFHxS [132].

The renal clearance values for PFOS are 0.012 mL/kg/day for men and 0.019 mL/kg/day for women, which are low in comparison with the values for the animals studied. The values for renal clearance of PFOA are somewhat higher [126]. The corresponding data are summarized in Table 20.

Renal clearance of PFOS and PFOA is therefore weak, and the compounds have a markedly long half-life in the human body when compared with those in other species. This hinders the translation of results from animal experiments to humans. A gender-dependent excretion of PFOS and PFOA via a hormone-regulated mechanism seems unlikely in humans [126]. This mechanism would also not be expected in mice or rabbits. In the animal model, excretion is mainly through urine and, to a smaller extent, through feces [133,134]. Protein binding and the formation of transporters are decisive factors in the distribution and excretion of PFCs [15,115]. Table 19 presents a summary of the elimination half-life values for various species of PFCs.

Toxicodynamics of perfluorinated compounds

Acute toxicity

In animal models, PFOS and PFOA demonstrate a moderate acute toxicity. The lethal dose with 50% lethality [LD₅₀] for PFOS is 251 mg/kg BW for a single oral dose in rats. LD₅₀ values for PFOA range from 430 to 680 mg/kg BW with an average of 540 mg/kg BW per day [15,17]. The lethal concentration with 50% lethality [LC₅₀] for 1 h inhalation of airborne dust contaminated with PFOS was 5.2 mg/L for rats. Kennedy et al. [100] determined an LC₅₀ of 0.98 mg/L for inhalation of PFOA. Inhalation of this concentration over one 4-hour period resulted in enlargement of the liver and corneal opacity in rats.

Glaza et al. [135] determined a dermal LC₅₀ of 2,000 mg PFOA/kg BW in rabbits [15]. Rats and rabbits were tested in another study on the dermal toxicity of APFO by Kennedy [99]. Dermal application of 0.5 g APFO for 24 h caused light skin irritation in rabbits.

Skin irritation was less pronounced in rats than in rabbits. Irritation of the skin and eyes by PFOS was not observed in albino New Zealand rabbits. ([136] cited in

Table 18 PFOA steady-state concentrations in matrices following daily oral administration of APFO dosages on cynomolgus monkeys

Sample matrix	Dose		
	3 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Serum	81 mg/L	99 mg/L	156 mg/L
Urine	53 mg/L	166 mg/L	181 mg/L
Feces	7 mg/kg	28 mg/kg	50 mg/kg
Liver	16 mg/kg	14 mg/kg	50 mg/kg

from Butenhoff et al. [283]

Table 19 Elimination half-lives by various species according to perfluorinated compound and gender

Species	PFOS	PFOA		PFHxS		PFBA		PFBS	References
	M/F	F	M	F	M	F	M	M/F	
Chicken	125 days	-	4.6 days	-	-	-	-	-	Yoo et al. [109]; Yeung et al. [284]
Chick	16 days	-	3.9 days	-	-	-	-	-	
Rat	100 days	2 to 4 h	4 to 6 days	-	-	1.6 to 1.8 h	7 to 9 h	4.5 h (M) 4 h (F)	Chang et al. [285]; Johnson et al. [98]; Olsen et al. [131]
Mouse	-	17 days	19 days	-	-	3 h	7 h	-	
Rabbit	-	7 h	5.5 h	-	-	-	-	-	Hundley et al. [133]
Dog	-	8 to 13 days	20 to 30 days	-	-	-	-	-	Hanhijarvi et al. [286]
Monkey	150 days	30 days	21 days	87 days	141 days	1.7 days	-	3.5 to 4 days 4 days (M) 3.5 days (M)	Butenhoff et al. [125]; Chang et al. [285]; Buttenhoff et al. [283]; Olsen et al. [85]; Seacat et al. [128]; Olsen et al. [131]
Human	5.4 years	-	3.8 years	-	8.5 years	-	-	30 days 25.8 days	

F, female; M, male; PFBA, perfluorobutane acid; (from Lau et al. [115] amended and expanded).

EFSA [15]). PFOS was shown to be more toxic than PFOA in studies of fresh water organisms such as water flea, water snails, shrimp, and planaria. Ji et al. [137] even alluded to a toxicity of PFOS 10 times higher than PFOA in such organisms. The lowest LC₅₀ for fish is a 96-h LC₅₀ of 4.7 mg/L to the fathead minnow *Pimephales promelas* for the lithium salt [134]. Table 21 summarizes the various LD₅₀ and LC₅₀ values.

Subacute and subchronic toxicities

Studies have shown that the primary effects of subacute and/or subchronic toxicities induced by repetitive applications of PFOS and PFOA varied according to species: hypertrophy and vacuolization of the liver, reduction of serum cholesterol, reduction of triglycerides in serum, reduction in body weight gain or body weight, and increased mortality.

The most sensitive target organs for repetitive oral application of PFOS over a period of 4 weeks to 2 years

in rats and cynomolgus monkeys were the liver and thyroid. The liver was also the most sensitive target organ for repetitive applications of PFOA in mice, rats, and primates. The effects observed include increased weight of liver, increases in enzymatic activity of transaminases in serum (alanine aminotransferase [ALT], aspartate aminotransferase [AST]), hepatic cellular hypertrophy, vacuolization, and liver necrosis [17, [127] cited in EFSA [15]). A 28-day study on the oral toxicity of PFOA showed increased mortality, dose-dependent reduction in weight gain and increase in liver weight in rats and mice that had received 30 mg/kg in their feed or 50 mg/L in their drinking water ([138,139]; [140] cited in EFSA [15]).

No evidence of disease or increase in mortality rate was observed in a 90-day study (13 weeks) on male rats. An increase in weight loss was observed in the group which received the highest dosage of APFO (6.5 mg/kg

Table 20 PFOS and PFOA renal clearance and serum half-life in humans compared with monkeys and rats

Substance	Species	Gender	Renal clearance (mL/day/kg)	Serum half-life in days
PFOS	Human	Female (48 kg)	0.019	n.r.
		Male (61 kg)	0.012	3, 165
	Cynomolgus monkey	Male	n.r.	200
PFOA	Human	Female (48 kg)	0.027	n.r.
		Male (61 kg)	0.033	1, 573
	Japanese macaque	Female	32	2.7
		Male	15	5.6
	Wistar rat	Female	1, 054	0.08
		Male	46.1	5.63

Adapted from Harada et al. [126]; n.r., not reported.

Table 21 LD₅₀ and LC₅₀ values for PFOS and PFOA (from [15]; BfR [17] enhanced)

Criterion	PFOS	PFOA	Animal species	Reference
LD ₅₀	251 mg/kg BW	430 to 680 mg/kg BW	Rat	Dean and Jessup [287]
LC ₅₀	5.2 mg/L, inhalative	0.98 mg/L, inhalation	Rat	Kennedy [100]
LD ₅₀	n.r.	4, 300 mg/kg APFO, dermal	Rabbit	Kennedy [99]
LD ₅₀	n.r.	7, 000 mg/kg 7, 500 mg/kg, dermal	Male rats Female rats	Kennedy [99]
LC ₅₀	n.r.	2, 000 mg/kg, dermal	Rabbit	Glaza et al. [135]
48 h-LC ₅₀	27 to 233 mg/L	181 to 732 mg/L	Four fresh water species (water flea, water snail, shrimp, planarian)	Li [288]
96 h-LC ₅₀	10 to 178 mg/L	337 to 672 mg/L		
LC ₅₀	18 mg/L	200 mg/L	Japanese water flea	Ji et al. [137]

n.r., Not reported.

BW/day), at a dosage of 0.64 mg/kg BW/day, and increased levels of palmitoyl-CoA-oxidase activity, a marker for peroxisome proliferation.

In addition, liver weight increased. Histopathological changes included hypertrophy and necrosis of the liver cells. Levels of estradiol, testosterone, and luteinizing hormone [LH] remained unchanged. The PFOA concentrations in serum, measured after treatment with various APFO doses, are shown in Table 22. The 'no observed adverse effect level' [NOAEL] determined in this study was 0.06 mg/kg since a dose of 0.64 mg/kg BW/day and above resulted in reversible changes to the liver [141].

Liver toxicity was also described in rats after inhalation and dermal uptake of PFCs. An increase in mortality rates was observed after inhalation exposure to PFOA. Based on non-neoplastic effects in the liver at the next higher dosage, the NOAEL was noted as 0.14 to 0.16 mg/kg BW/day [127].

Further studies show that the toxicity profiles of L-PFOA, 80% linear and 20% branched chain PFOA, as well as 100% branched chain PFOA are similar. However, the branched chain form is less effective than the pure linear form. The 'lowest observed adverse effect level' [LOAEL] in rats was higher for linear and branched chain isomers (1 mg/kg BW/day) than the LOAEL for the purely linear application form of PFOA (0.3 mg/kg BW/day). The LOAEL in these studies was

based on the reduction of cholesterol and triglyceride levels in the blood of rats. This LOAEL was equivalent to a PFOA serum concentration of 20 to 51 mg/L in rats ([142] cited in EFSA [15]). These observations are in agreement with the conclusion drawn above that branched chain isomers are generally excreted more rapidly than the linear forms [129,130].

Seacat et al. [108] assumed a NOAEL for PFOS of 0.34 to 0.4 mg/kg BW/day when ingested by rats with their food. This was the lowest dose for which an effect could be observed over a time period of 14 weeks in male rats. Nonetheless, this dose was denoted as NOAEL, whereby the observed hepatocellular hypertrophy and vacuolization were marginal [108].

Curran et al. [143] undertook a detailed and extensive study of subacute toxicity of PFOS in rats. The authors exposed Sprague-Dawley rats to doses of 2, 20, 50, or 100 mg PFOS/kg in the feed over a period of 28 days. At low dosages, PFOS accumulated primarily in the liver and at lower concentrations, in other organs such as the spleen and heart, as well as in the serum. The PFOS concentrations in the serum and other organs were seen to rise at higher dosages (50 and 100 mg/kg food). The results of this study confirm that the liver is the target organ for PFOS. Hepatomegaly, reduced triglyceride and cholesterol levels in serum, increased the expression of the gene for acyl-coenzyme A-oxidase 1 (ACOX1) and of cytochrome P450 4A22 (CYP4A22) are all indications of exposure to a peroxisome proliferator. Changes in fatty acid profiles in the liver encompass an increase in the total amount of simple unsaturated fatty acids, a loss in the total amount of polyunsaturated fatty acids as well as an increase in linoleic acid concentration and a reduction of long-chain fatty acids. These changes also portend to a weak peroxisome proliferator. The authors suggest that the fatty acid dysfunctions in the liver may possibly be the cause of changes in the

Table 22 PFOA serum concentrations of male rats after a 90-day exposure to various dosages of APFO

Dosage (mg APFO/kg feed/day)	PFOA serum concentration (mg/L)
0.06	7.1
0.64	41
1.94	70
6.5	138

Adapted from Perkins et al. [141].

cell membranes in red blood cells, seen as an increase in lysis and cell fragility. Concentrations of the thyroid hormones tri-iodo thyronine [T_3] and thyroxine [T_4] were lowered in PFOS-exposed rats. The kidneys and the cardiovascular system do not seem to be influenced by PFOS. The LOAEL in this study was 20 mg PFOS/kg feed for male rats and 2 mg PFOS/kg feed for female rats based on increased liver weight and reduced body weight. At these dosages, the animals had serum concentrations of 13.5 or 1.5 mg PFOS/kg, respectively [143].

In a study on the subacute toxicity of PFCs in rats, Cui et al. [144] determined that the liver, the lungs, and the kidneys were the main target organs for these substances. They exposed Sprague-Dawley rats to PFOS or PFOA at concentrations of 5 and 20 mg/kg BW/day, respectively, for 28 days. Changes were observed in the group with the highest PFOS dose (20 mg/kg/day) including reduced activity, lethargy, reduced food uptake, and an apparent loss of body weight. Hypertrophy and cytoplasmic vacuolization of the liver and epithelial cells induced pleural thickening. The highest PFOA concentrations after a 28-day exposure were measured in the kidneys (228 ± 37 mg/kg at a dosage of 5 mg/kg/day). The highest PFOS concentrations were 648 ± 17 mg/kg in the liver following an exposure of 20 mg/kg/day for 28 days. The increased accumulation of PFOS may explain the higher toxicity of this substance [144].

In a 90-day study on the oral toxicity of PFOA in rhesus monkeys, all four of the animals in the group that received 100 mg/kg BW/day died within 5 weeks, and three monkeys of the group that received 30 mg/kg BW/day died in the 13th week. Loss of heart and brain masses was detected in female animals that received 10 mg/kg BW/day. PFOA-induced organ damage could be observed in animals that received 3 to 10 mg/kg BW/day. The only change seen in the monkeys that received the lowest dosage (3 mg/kg BW/day) was a slight diarrhea [145,15].

In a study, a six-month oral APFO exposure of cynomolgus monkeys indicated a dose-dependent increase in liver weight in association with a proliferation of the mitochondria. No histological evidence of liver damage was observed in the low-dosage range (3 to 10 mg/kg BW/day). In addition, no changes were observed in clinical parameters of hormones, urine, or blood composition that could be attributed to treatment with APFO. It must be noted, however, that the groups were made up of only four to six animals, whereby one monkey from the group receiving the lowest dosage was replaced because of bacterial septicemia, and the highest dosage was lowered retroactively due to weight loss and a reduction in food uptake by the animals [146].

In a study by Seacat et al. [128], doses of 0.03, 0.15, and 0.75 mg PFOS/kg BW/day were applied directly to the stomach of cynomolgus monkeys for 26 weeks. Histopathological changes were detected in the liver at the highest dosage. At the lowest dosages, changes in serum concentrations of thyroid hormones (thyroid stimulating hormone [TSH], T_3) were observed. High-density lipoprotein [HDL] and cholesterol levels were also changed. The observed effects in dependence upon dosage in male and female monkeys are shown in Table 23. The clinical changes and the effects on the liver had completely disappeared 211 days after treatment. This reversibility of the effects was accompanied by a significant reduction in PFOS concentration in the serum and in the liver [128].

In both the cynomolgus monkey and in the rat studies, a steep dose-effect relationship for PFOS was conspicuous. The dose-effect curve for PFOA in rats was less steep than that for PFOS ([17] cited Perkins et al. [141]).

Subacute toxic effects of PFC exposure were also observed in fish. Yang [147] put Japanese Girardinus guppies in sea water containing 10, 50, or 100 mg/L PFOA for 7 days. Neither survival rate nor relative liver and gonad size or growth was affected by this concentration. Peroxisomal acyl-CoA-oxidase activity was, however, increased at the highest dosage. This was accompanied by a significant increase in the peroxisome proliferator activated receptor [PPAR] α expression. PFOA induced a significant inhibition of catalase activity at a high dosage, without causing changes in the superoxide dismutase or glutathione peroxidase level in the liver. This suggests that PFOA causes an induction of the peroxisomal fatty acid oxidation and an increase in oxidative stress by changing the cellular oxidative homeostasis in the liver. Furthermore, PFOA increases the mRNA concentration of proinflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α , and IL-1 β suggesting that inflammation and tissue damage may be involved [45].

Table 23 Changes in male and female cynomolgus monkeys after daily application of various dosages of PFOS

Change	PFOS dosage (mg/kg BW)			
	0	0.03	0.15	0.75
Increased mortality				x ^a
Vacuolization and hypertrophy of the liver				x °
TSH level increased			x	x °
T_3 level lowered		°	x	x °
HDL concentration lowered		x	°	x °
Bilirubin concentration dropping				x
Cholesterol concentration dropping				x °

Changes in male (cross) and female (empty circle) monkeys; ^atwo of six animals. Adapted from Seacat et al. [128]; Bfr [17].

Fang et al. [148] found that a 14-day exposure of rare minnows to PFOA caused a change in the expression of apolipoproteins and upstream genes (PPAR α , PPAR γ , HNF4 α). These changes in gene expression can influence lipid metabolism or other physiological functions in fish. Results from studies on subacute and subchronic toxicities of PFCs are summarized in Table 24.

Chronic toxicity and carcinogenicity

In a study on chronic toxicity and carcinogenicity of PFOS, groups of 40 to 70 male and female rats were fed with the potassium salt of PFOS in doses of 0.5, 2, 5, and 20 mg/kg mixed with their feed for 104 weeks. An additional comparison group received the maximum PFOS dose for 52 weeks, followed by 52 weeks of control diet without PFOS exposure. Hepatotoxic and carcinogenic effects were observed in the rats after PFOS exposure. Based on the hepatotoxic effects, a NOAEL of 2 mg/kg feed or 0.14 mg/kg BW/day was calculated for male and female rats ([17,149] cited in EFSA [15]). The observed effects in rats according to dose and frequency are shown in detail in Table 25.

A study by Sibinski [150] on chronic exposure to PFOA showed an increased incidence of Leydig cell adenomas. The incidence of breast fibroadenomas was not

significantly or dose-dependently increased over the control values. The 50 male and 50 female rats^e were fed 30 or 300 mg/kg APFO with their feed for a period of 2 years. A dose-dependent decrease in weight gain was observed in male rats and, to a lesser extent, in female rats. The decrease was statistically significant for both male and female animals that received the maximum dosage. Comparison of survival rates, urinalyses, and ophthalmological examinations did not show any significant differences from the control animals. Additional effects observed after exposure to APFO are presented in Table 26. The biological significance of ovarian damage was questioned by the authors due to the lack of evidence of tumorigenesis. According to an evaluation by Mann and Frame [151], the effects on the ovaries were in the form of gonadal hyperplasias and/or adenomas. The NOAEL for male rats, based on increased liver weight and liver anomalies, was 1.3 mg PFOA/kg BW. For females, the NOAEL was listed as 1.6 mg PFOA/kg BW/day since higher dosages led to reduced body weight and changes in blood values [15].

A pathology work group evaluated the appearance of proliferative injury to mammary glands in female rats that had been fed APFO for 2 years. Using documents

Table 24 Data from studies on subacute and subchronic toxicities of PFOS and PFOA

Substance	Exposure period	Species	Target organ/Effect	Effective dosage ^a	NOAEL ^a	Reference
PFOS	28 days	Rats	Body weight ↓, liver mass ↑, and altered gene expression and fatty acid metabolism in the liver, T ₃ , and T ₄ ↓	2 to 20 mg/kg feed	n.r.	Curran et al. [143]
	14 weeks	Rats (male)	Hypertrophy and vacuolization of the liver	n.r.	0.37	Seacat et al. [108]
	26 weeks	Cynomolgus monkey	Centrilobular vacuolization, hypertrophy of the liver, T ₃ ↓, TSH ↑, HDL ↓, and bilirubin, cholesterol concentrations ↓	n.r.	0.03	Seacat et al. [128]
	1 and 4 months	Fresh water larvae of small dragonflies	Deterioration of behavioral and activity parameters (larvae were less active, less able to avoid attackers, or less efficient in foraging)	> 10 µg/L	10 µg/L	Van Gossum et al. [289]
PFOA	7 days	Japanese guppies	Activity of peroxisomal acyl-CoA-oxidase ↑ and significant inhibition of catalase activity, mRNA concentration proinflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α and IL-1 β ↑	50 and 100 mg/L	n.r.	Yang [147]
	14 days	Minnows	Changes in the expression of apolipoproteins and upstream genes (PPAR α , PPAR γ , HNF4 α)	n.r.	n.r.	Fang et al. [148]
	90 days	Rats (male)	Liver mass ↑ and hepatocellular necrosis	1.7	0.6	Goldenthal [290]
APFO	14 days	Rats	Body weight gain ↓, liver mass ↑, and serum enzyme activity ↑	84 mg/m ³	1 mg/m ³	Kennedy et al. [100]
	90 days	Rats (male)	Absolute and relative liver mass ↑, hepatocellular hypertrophy, and effects were reversible	0.64	0.06	Perkins et al. [141]
	90 days	Rhesus monkey	Gastrointestinal effects and mortality	3 to 100	n.r.	Goldenthal [145]
	26 weeks	Cynomolgus monkey	Liver mass and mortality ↑	3 to 30	n.r.	Butenhoff et al. [146]
PFOS/ PFDA/ PFOA	3 weeks	Chicks (male)	No significant effects	n.r.	> 1	Yeung et al. [284]

^aEffective dosage and NOAEL without further specifications are presented in milligrams per kilogram per body weight per day. Upward arrow, increased; downward arrow, decreased; n.r., not reported; T₃: tri-iodo thyronine; T₄, thyroxine.

Table 25 Observed effects in a study of chronic exposure of rats to PFOS

Category	Effects	Occurrence, dosage, and frequency (Cases/Total number)
Hepatotoxicity	Increase in centrolobular hypertrophy, eosinophilic granuloma, and vacuolization of liver cells	(a) Male rats, 2 mg/kg of feed (b) Male and female rats, 5 or 20 mg/kg of feed
Electron microscopic results	Mild to moderate hyperplasia of the smooth endoplasmic reticulum, minimal to mild hypertrophy of liver cells, and no peroxisome proliferation	In a proportion of the animals that received 20 mg/kg of feed
Neoplastic effects	Significant increase in the incidence of (a) adenomas of the liver, (b) follicular adenomas of the thyroid, (c) hepatocellular adenomas, carcinomas, (d) follicular adenomas and carcinomas of the thyroid, (e) fibrocystic breast adenomas/adenomas, and (f) fibrocystic breast adenomas/adenomas/carcinomas	(a) Male rats, 20 mg/kg of feed (7/60), control (0/60) (b) Comparison group (9/39), control (3/60), group with highest dosage (4/59) (c) Female rats, 20 mg/kg of feed (d) Female rats, 5 mg/kg of feed (3/50), control (0/60) (e) Female rats with the exception of the group with the highest dosage (f) Female rats, 0.5 mg/kg of feed (36/50), 2 mg/kg (31/48), but not for the group with 5 and 20 mg/kg of feed (29/50 and 24/60), control (29/60)

Adapted from Thomford [149] cited in EFSA [15].

from the study of Sibinski [150], they came to the conclusion that the incidence of mammary gland tumors was not changed by chronic exposure to APFO. Feeding female rats (see Table 26) as much as 300 mg/kg APFO did not result in an increase in proliferative damage to breast tissue [152].

In an additional study on the carcinogenicity of APFO, rats were fed 300 mg APFO/kg of food, equivalent to *ca.* 14 mg/kg BW/day for 2 years. The study encompassed 153 rats, and an additional 80 animals formed the control group. Hormone status, cell proliferation, and peroxisome proliferation were measured. Increases in liver weight and β -oxidation activity of the liver were statistically significant throughout the whole test period, whereas increases in weight of the testicles only occurred at 24 months. No differences were detected between the exposed rats and the control animals in regard to serum concentrations of testosterone, follicle-stimulating hormone [FSH], LH, or prolactin. An increased incidence of Leydig cell adenomas was seen in the exposed group (8/76) when compared with the control group (0/80) as well as liver adenomas (10/76 vs. 2/80) and pancreas cell tumors (7/77 vs. 0/80). The numbers in brackets show the observed cases and total number of animals in the groups of exposed and control

animals [153]. Further studies showed that an APFO dosage of 14.2 mg/kg BW/day increases the incidence of damage to proliferating pancreas cells; however, it does not increase the incidence of adenomas or carcinomas ([17,154] cited in EFSA [15]).

Sibinski [150] and Biegel et al. [153] both showed that PFOA or PFOS induces liver-cell adenomas, Leydig cell adenomas, and hyperplasia of acinar pancreas cells. Furthermore, it could be shown that PFOA functions as promoter in liver carcinogenesis of male Wistar rats. The rats were treated with 0.02% APFO in their feed, and 200 mg/kg BW/day of diethylnitrosamine served as initiator ([155,156] cited in EFSA [15]).

Genotoxicity and epigenetic effects

In various *in vitro* and *in vivo* test systems, PFOS and PFOA did not appear to be genotoxic. Therefore, it can be assumed that the carcinogenic effects are the result of an epigenetic mechanism and that the trigger is a threshold concentration, i.e., apparently a dosage exists beneath which a carcinogenic effect would not be expected [17].

Based on a number of *in vitro* and *in vivo* tests concerning gene and/or chromosome mutagenicity or the induction of unscheduled gene repair, the EFSA also assumes that PFOS is not genotoxic. PFOS does not

Table 26 Effects on rats after a 104-week application of APFO (from Sibinski [150]; EFSA [15])

Category	Effects	Animal, dosage, in part frequency (Cases/Total number)
Non-neoplastic effects	(a) Slight reduction in number of erythrocytes and packed cell volume, liver mass, liver nodules, Leydig cell mass ↑; (b) number of white blood cells ↑ and AST, ALT, alkaline phosphatase, and creatine phosphokinase ↑; (c) breast tissue mass ↑ and tubular hyperplasia of the ovarian stroma; (d) kidney mass ↑ and changes in the liver (hepatomegalocytosis, necrosis, mononuclear cell infiltration, cystoid degeneration)	(a) Male rats, 300 mg/kg (b) Male rats, 30 mg/kg (c) Female rats, 30 mg/kg (d) Female rats, 300 mg/kg
Carcinogenicity ↑	(a) Incidences of testicular Leydig cell adenomas ↑ and (b) fibrocystic breast adenomas ↑	(a) Male rats, 0 mg/kg (0/50), 30 mg/kg (2/50), 300 mg/kg (7/50) (b) Female rats, 0 mg/kg (10/46), 30 mg/kg (19/45), 300 mg/kg (21/44)

Upward arrow, increased.

induce gene mutation with or without metabolic activation in a bacterial test system, does not cause chromosome aberrations in human lymphocytes, and does not induce unscheduled DNA synthesis in rat hepatocytes. PFOS does not cause formation of micronuclei in a mouse's bone marrow cells *in vivo*. Various *in vitro* and *in vivo* genotoxicity tests for precursors of PFOS and *N*-ethylperfluorooctyl sulfonamide ethanol [*N*-EtFOSE], *N*-EtFOA, *N*-methylperfluorooctyl sulfonamide ethanol were also negative. APFO also failed to induce back mutations in tests with *Salmonella typhimurium* or *Escherichia coli*, both with or without metabolic activation. APFO did not cause chromosome aberrations in human lymphocytes or in ovary cells of Chinese hamsters, with or without metabolic activation, nor did it lead to cell transformation in mouse embryo fibroblasts. An *in vivo* micronuclear test on mice treated with PFOA was also negative [15].

Murli et al. [157] twice tested the potential of APFO to cause chromosome aberrations in cells of the Chinese hamster. In the first test, the results were positive, both with and without metabolic activations, i.e., chromosome damage was observed. In the second test, APFO induced chromosome aberrations and polyploidy only without activation. However, these effects were only observed at cytotoxic concentrations of APFO [15].

In the study by Yao and Zhong [158], PFOA was seen to induce not only DNA strand breaks, but also increased concentrations of reactive oxygen species and 8-hydroxydesoxyguanosine [8-dG]. This result suggests that the observed genotoxic effects are induced by an oxidative damage to the DNA or by intracellular ROS. Takagi et al [159] also detected significantly increased 8-dG concentrations.

Reproductive and developmental toxicity

PFOS and PFOA neither interfered with reproduction nor did they lead to any appreciable teratogenic effects. Both substances did, however, show developmental toxicity when the mother animal was exposed during pregnancy, i.e., they led to a reduced increase in body weight after birth and reduced the number of live births and the viability of the progeny in the first five days after birth [15,17,115,134,160,161].

For example, in a study by Lau et al. [162], all live-born young rats, born to a mother that was exposed to 10 mg PFOS/kg BW/day during gestation, were pallid, inactive, became moribund within 30 to 60 min, and died shortly thereafter. The offspring of mother animals that received 5 mg PFOS/kg BW/day, survived for 8 to 12 h. This could also be observed in progeny of mother animals that received 20 or 15 mg/kg BW/day. However, 95% of these progeny died within the first 24 h after birth. Approximately 50% of the progeny died when the mother animal received 3 mg PFOS/kg BW/day (rat) or

10 mg/kg BW/day (mouse). Wet nursing the progeny by a non-exposed control animal did not improve their viability. Prenatally exposed rats and mice that did survive showed delays in growth and opening of the eyes. Exposed young mice had significantly higher liver weight and lower T_4 concentrations in serum but unchanged T_3 and TSH concentrations when compared with non-PFOS-exposed animals [162].

In a two-generation study on rats, Lübker et al. [163] found fertility parameters unchanged after oral application of the maximal PFOS concentration was tested (3.2 mg/kg BW/day).

In another two-generation study on rats, the progeny of PFOS-exposed mother animals (LOAEL = 0.4 mg/kg BW/day) were found to gain body weight more slowly in the F1 generation and to have reduced birth weight in the F2 generation. The serum concentrations of the animals (F0) on the 21st day of gestation were 26.2 mg/kg and of the fetuses, 34.4 mg/kg (liver- and serum-pooled). The NOAEL was calculated to be 0.1 mg/kg BW/day ([164] cited in EFSA [15]).

Unaltered fertility parameters were found in yet another two-generation study of PFOA-exposed rats by Butenhoff [165]. The highest dosage in this study was 30 mg/kg BW/day. No signs of maternal toxicity were observed in the animals at exposures up to this dosage. However, compared with those in control animals, the adult body weight of the progeny was lower and liver and kidney weights were higher even at the lowest dosage tested, 1 mg/kg BW/day. The mortality rate of the progeny was increased at 30 mg/kg BW/day, which is the highest dosage tested [17].

Because of allusions to a correlation between PFOA serum concentrations with a reduced sperm count in young Danish adults and/or a longer period before pregnancy occurred, York et al. [166] reevaluated these two-generation studies. Testicular and sperm structures and functions, however, were unchanged in APFO-treated rats with an average PFOA serum concentration as high as 50,000 µg/L. Since the PFOA concentration in the Danish cohort was 5 µg/L, the authors assume that there is no causal relationship between PFOA concentrations in serum and a reduction in sperm count in these men [166].

Lau et al. [161] carried out studies on the developmental toxicology of PFOA using mice since the excretion of PFOA in female rats is so rapid that these animals were not considered appropriate experimental subjects for these tests. Effects (increased liver weight) were observed in the mother animals exposed to a dosage of 1 mg/kg BW/day or higher. Increased resorption of fetuses and reduction of survival rate and body weight gain of the live-born progeny were observed when mother animals received dosages of 3 mg/kg BW/

day. These effects exhibited a steep dose-response curve. The resorption of all of the fetuses in a litter during gestation (full-litter resorption) which resulted from a dosage of 5 mg PFOA/kg BW/day or higher was particularly striking [17,161].

Grasty et al. [167] set out to determine a critical time period of gestation for effects of prenatal exposure using Sprague-Dawley rats. The authors administered 25 mg/kg BW of the potassium salt of PFOS on GD 2 to 5, 6 to 9, 10 to 13, 14 to 17, and 17 to 20 or 25 or 50 mg/kg BW on day 19 to 20. Neonatal mortality was observed for all of the time periods; however, the incidence of stillbirths increased with the PFOS exposure at later periods of gestation, reaching 100% for prenatal exposure on GD 17 to 20. Exposure to PFOS in the late phases of gestation is apparently adequate to induce effects that are toxic to reproduction. This result suggests that PFOS damages the organs that develop in the last phases of gestation. Grasty et al. [168] therefore examined the lungs of newborn rats and discovered thickening of the alveolar walls of prenatal PFOS-exposed young animals. However, as a result of the normal phospholipid profile of the lungs and the fact that treatment with dexamethasone or retinylpalmitate did not ameliorate the situation, it must be concluded that the neonatal mortality is not due to the immaturity of the lungs [15]. Lau et al. [115] mentioned studies that suggest an effect of PFCs on the pulmonary surfactants, e.g., dipalmitoylphosphatidylcholine. In a study in which PFOA was exclusively applied in the late phase of gestation, it was also shown that this treatment was adequate to trigger developmental toxic effects in mice ([169] cited in BfR [17]).

In a cross-fostering study, Lübker et al. [170] observed that neonatal mortality was also high in progeny that had been exposed to PFOS *in utero* but which had not been exposed to any further PFOS in milk. Compared with control animals, a diminished gain in body weight was also noted in animals that were only exposed to PFOS via the milk they drank, but were not the progeny of PFOS-treated mother animals [17,115].

Yu et al. [171], in another cross-fostering study, observed that both pre- and postnatal PFOS exposures (3.2 mg/kg feed) lower the T₄ concentration in the prenatally exposed progeny. On days 21 and 35 after birth, the T₄ concentrations were reduced by 20.3% or 19.4%, and in postnatally exposed rats, by 28.6% or 35.9% compared with control animals.

Liu et al. [113] injected young mice with 50 mg/kg BW PFOS on different days after birth. They then measured, among other things, the concentration of maleic acid dialdehyde, superoxide dismutase [SOD] activity, and the total antioxidative capacity [T-AOC] as parameters of oxidative damage that might be occurring.

PFOS induced a loss of body weight in mice and an increase in the relative weight of the liver. It also suppressed SOD activity and diminished the T-AOC in the brain and liver. Younger mice were more sensitive to the effects of PFOS than older animals [113].

Abbott et al. [172] studied the influence of PPAR α on the PFOA-induced developmental toxicity using wild-type and PPAR α knockout mice. The authors administered oral dosages of 0.1, 0.3, 0.6, 1, 3, 5, 10, and 20 mg/kg BW on the 1st to the 17th GD. (The effects are described in Table 17). Resorption of all fetuses of a mother animal through the administration of 5 mg PFOA/kg BW/day occurred as frequently in the PPAR α -deficient mice as in the wild-type animals. The effects of PFOA cannot therefore be attributed fully to the activation of PPAR α . PPAR α does, however, seem to play a role in the delayed opening of eyes and the postnatal reduction in weight gain [15,17,172]. Abbott et al. [173] came to the conclusion that the developmental toxicity effects are not dependent upon the activation of PPAR α by PFOS. The wild-type mice were just as sensitive to the effects of neonatal lethality as were the PPAR α -knockout mice. Furthermore, it can be seen from this publication that PPAR α , β , and γ are expressed in early developmental phases in embryos of rodents and humans. The expression patterns depend upon the developmental stage and the type of tissue, leading to the assumption that PPAR α , β , and γ play important functions in many cell types and organs during development [173].

The influences on reproduction by PFOS and PFOA are not limited to mammals but have, for example, also shown to affect chickens [174-176], quail, mallard duck [177], frogs, and fish ([178,179] cited in Lau et al. [115]). The following observations stem from studies on the developmental and reproductive toxicity of other PFCs:

The toxic effects of *N*-Et-FOSE are similar to those of PFOS. This may be explained by the transformation of *N*-Et-FOSE into PFOS; however, *N*-Et-FOSE was also seen to increase the number of stillbirths and mortality of the newborn in the F2 generation of rats ([163,164] cited in Lau et al. [115]). The effects of 8:2 FTOH on rats were slightly similar to those of PFOA into which FTOH can be transformed. The NOAEL for 8:2 FTOH was determined to be 200 mg/kg BW/day ([58] cited in Lau et al. [115]). PFBS did not elicit a verifiable developmental effect in rats [115]. In contrast to observations on PFOS and PFOA, exposure of pregnant mice to PFBA was not found to have adverse effects on survival of newborn or their postnatal growth [180]. Although PFHxS, compared with PFBS, PFOS and PFOA, has the longest half-life in humans, no effects on reproduction or survival and growth of the progeny was observed in rats. The NOAEL for developmental toxicity of PFHxS

was determined to be 10 mg/kg BW/day ([181] cited in Lau et al. [115]). Perfluorodecanoic acid, like other PFCs, did not induce deformations and also did not elicit any other developmental toxic effects [182].

PFNA led to cell apoptosis in testicles of male rats. The animals received oral doses of 1, 3, and 5 mg/kg/day for 14 days. The results imply that the 'death receptor pathway' is the chief mediator for apoptosis in the kidneys which is a result of PFNA exposure. It is not yet known whether PFNA induces the changes in Fas and FasL expressions directly or whether the imbalance between testosterone and estradiol, which causes germ cell apoptosis, is involved in the Fas/FasL pathway [183]. Table 27 presents a survey of the studies on reproduction and developmental toxicity of PFOS, PFOA, and other PFCs.

Neurotoxicity

A study by Austin et al [107] showed that PFOS can have an influence on the neuroendocrine system in rats. The authors discovered reduced food intake and body weight, influence on the ovarian cycle, increased corticosterone concentration, and decreasing leptin concentration in serum as effects of PFOS exposure. In addition, noradrenaline concentrations in the paraventricular nucleus of the hypothalamus were elevated.

In an *in vitro* study, Harada et al. [184] observed that PFOS increases the negative charge density in the cell membrane of Purkinje cells, e.g., nerve cells in the cerebellum, of rats. It also reduced the membrane potential, leading to hyperpolarization and thus influencing activation and inactivation of the ion channels. This appears to indicate that PFOS has an effect on the action potential in nerve cells [185].

Slotkin et al. [186] tested the neurotoxicity of PFOS, PFOA, FOSA, and PFBS in an *in vitro* experiment on undifferentiated and differentiated PC12 cells. After addition of the substances, the authors examined the cells for inhibition of DNA production, deficits in cell numbers and growth, oxidative stress, reduced viability, as well as changes in the production of the neurotransmitters, dopamine and acetylcholine. They came to the conclusion that the different PFCs do not exhibit the same influence on neurons and that it is unlikely that a simple, mutual mechanism is behind all of the neurotoxic effects. FOSA exhibited the strongest effects on the cells, followed by PFOS and PFBS, and finally, PFOA. FOSA depressed DNA production, caused oxidative stress, and reduced the viability of the cells. An explanation for the stronger toxic potential of FOSA is most likely the increased hydrophobicity of this compound and the inherently enhanced access to the cell membrane [186].

In their study, Liao et al. [187] also came to the conclusion that the effects of PFCs on the neurons of the

hippocampus of rats are dependent upon the length of the carbon chains and on the functional groups on the alkyl chains. The influence of PFCs on synaptic transmission, calcium current, and neurite growth were examined. Longer chain compounds or such that have a sulfonate group appeared to have stronger effects than short-chain PFCs with a carboxylate group. For example, the experiments with PFOS and PFTDA displayed the highest frequency and strongest amplitude of spontaneous miniature postsynaptic currents [187].

Ten-day old mice received a single dose of 0.75 or 11.3 mg PFOS/kg BW, 0.58 or 8.7 mg PFOA/kg BW, or 0.72 or 10.8 mg PFDA/kg BW in their stomachs. Their spontaneous behavior, defined as movement, breeding behavior, and total activity, as well as their habits were then observed at 2 and 4 months. Behavioral abnormalities were observed in the mice that were exposed to PFOS and PFOA. These appeared as a reduced or deficient adaptability and hyperactivity of the adult mice. These effects became stronger with age. An effect on the cholinergic system was examined using the nicotine-induced spontaneous behavior test on 4-month old animals. The response to nicotine was hypoactivity in exposed animals in contrast with a hyperactive response to nicotine in control animals. Based on the response to nicotine, the effects appear to be mediated by the cholinergic system. These neurotoxic changes are similar to those induced by other POPs such as PCB [15,188]. In a subsequent study on mice, Johansson et al. [189] also showed that PFOS and PFOA increased the concentrations of proteins that are necessary for normal brain development, the tau protein and synaptophysin. Tau proteins play a role in the pathogenesis of Alzheimer's disease, and synaptophysin is a membrane protein of synaptic vesicles [190]. Altered concentrations of these proteins could possibly explain the behavioral changes described above [189].

According to the results of Sato et al. [191], a single dose of PFOS (≥ 250 mg/kg in rats, ≥ 125 mg/kg in mice) caused tonic spasms; however, ultrasound stimulus was required as trigger. Even with ultrasound stimulus, PFOA was not found to cause spasms. Changes in neurotransmitter concentrations in the brain or damage to nerve cells did not occur. Therefore, it was not possible to finally elucidate the mechanism responsible for the spasms. PFOS concentrations in the brain (20 to 25 mg/kg) were always lower than those in the liver, kidneys, or serum and increased with passing time after application [191].

The developmental neurotoxic effects were studied in a further *in vivo* study. Rats were fed 7.2 or 14.4 mg PFOS/kg of feed from the beginning of gestation until 30 days after birth. The cross-fostering method was used to differentiate between pre- and postnatal

Table 27 Studies on the reproduction and developmental toxicity of PFCs (from EFSA [15] and enhanced)

Substance	Experimental animal	Tested dosage and time point	Effects	NOAEL LOAEL ^a	Reference
PFOS	Rats	1, 5, and 10 mg/kg BW/day; GD 6 to 15	Body mass of the maternal animal ↓ and lens abnormalities	5 10	Gortner [291]
	Rats	5 and 10 mg/kg BW/day; GD 6 to 15	Weight loss of the maternal animal and developmental toxic effects: birth weight ↓, inner organ abnormalities, delayed ossification, and skeletal anomalies	1 5	Wetzel [292]
	Rats	1, 2, 3, 5, and 10 mg/kg BW/day; GD 2 to 21	Weight gain of the maternal animal ↓; serum T ₄ and T ₃ of the maternal animal ↓; at the highest dosage: body weight of the fetus ↓, cleft palate, anasarca, death rate 4 to 6 h after birth ↑; and from 2 mg/kg BW/day: postnatal growth rate, delayed opening of eyes, T ₄ ↓	n.r.	Lau et al. [162]; Thiobodeaux et al. [114]
	Mice	1, 5, 10, 15, and 20 mg/kg BW/day; GD 1 to 18	Delayed opening of eyes and from 5 mg/kg BW/day: liver mass ↑	n.r.	Lau et al. [162]; Thiobodeaux et al. [114]
	Rats	0.4, 0.8, 1, 1.2, 1.6, and 2 mg/kg BW/day; 6 weeks before mating, during gestation, and up to the fourth day of nursing	From 0.8 mg/kg BW/day: gestation time and viability of the young animals ↓	n.r.	Lübker et al. [163,170]
	Rats	0.1, 0.4, 1.6, and 3.2 mg/kg BW/day; 42 days before mating, during gestation, and nursing	At highest dosage: gestation time, number of implantation points, and litter size ↓; and at the second-highest dosage (F1): reduced viability, body weight of the newborn, delayed reflexes and physical development, food uptake after weaning ↓ and dosage (F2): birth weight ↓	0.1 0.4	Christian et al. [164]
	Rabbits	0.1, 1, 2.5, and 3.75 mg/kg BW/day; GD 6 to 20	Weight gain of the maternal animal ↓; and at the second highest dosage: birth weight ↓ and delayed ossification	0.1 1 1 2.5	Case et al. [293]
	Mice	1, 10, and 20 mg/kg BW/day; GD 0 to the end of the study	At the highest dosage (maternal animal): weight gain, feed ↓, water uptake ↑, liver mass ↑; body weight of the fetus ↓, enlargement of the neck, skeletal deformity; and newborn weak and inactive, lung atelectasis, aneurism of intracranial arteries, respiratory dysfunction to death	n.r.	Yahia et al. [294]
	Leghorn chickens	1, 2.5, and 5 mg/kg egg; before incubation	No effect on hatching rate, spleen mass ↑, right wings shorter, frequent occurrence of brain asymmetry, immunoglobulin (IgM, IgY) ↓, plasma lysozyme activity ↑; at the highest dosage: liver mass ↑; and at the highest dosage: body weight ↑	(1 mg/kg egg to 154 ng/g in serum)	Peden-Adams et al. [175]
	Mallard ducks and quail	10, 50, and 150 mg/kg of feed	Viability of the 14-day-old progeny ↓; at the lowest dosage: slight increase in incidences of small testes (length); however, spermatogenesis and fertility were not affected	Quail, 10 mg/kg feed	Newsted et al. [177]
PFOA	Rats	1, 3, 10, and 30 mg/kg BW/day	Body weight ↓, liver and kidney mass ↑; and at the highest dosage: birth weight ↓, mortality after weaning ↑, delayed puberty	n.r.	Butenhoff et al. [125,165]
	Mice	1, 3, 5, 10, 20, and 40 mg/kg BW/day; during gestation	Liver enlargement; full-term gestation, viable fetuses, fetus weight, postnatal viability ↓; and growth deficit, delayed opening of eyes, accelerated sexual maturity of male progeny	n.r.	Lau et al. [161]
	Mice	3 to 20 mg/kg BW/day	Liver mass of the maternal animal ↑; body weight gain ↓; and application during GD 7 to 17 and 10 to 17: delayed opening of eyes and growth of coat	n.r.	Wolf et al. [169]
	Mice	5 mg/kg BW/day; GD 1 to 17, 8 to 17, and 12 to 17	Body weight of young animals ↓ and abnormal development of the nursing process to retarded growth of progeny	n.r.	White et al. [295]

Table 27 Studies on the reproduction and developmental toxicity of PFCs (from EFSA [15] and enhanced) (Continued)

	Chickens	5, 20, 40 mg/kg egg; before incubation	Impaired hatching rate, high prevalence of splayed legs, and chicks with partial or complete loss of yellow pigment in the down	n.r.	Yanai et al. [174]
PFBS	Rats	30 to 1,000 mg/kg	No impairment of fertility or reproduction, no developmental toxic effects aside from a slight delay in onset of puberty, and weight gain in male F1 rats of the group with the highest dosage	n.r.	Lau et al. [115]
PFHxS	Rats	n.r.	No effect on fertility, reproduction, or viability and growth of the progeny	10	York [181] cited in Lau et al. [115]
N-Et-FOSE	Rats	n.r.	Toxic effects similar to those of PFOS, still birth, and mortality in the first three days ↑; in addition, increase in the number of stillbirths and mortality in the F2 generation	n.r.	Christian et al. [164]; Lübker et al. [163] cited in Lau et al. [115]
PFBA	Mice	35, 175, and 350 mg/kg BW/day; GD 1 to 17	No adverse effects in regard to survival rate of the progeny or their postnatal growth, delayed opening of eyes, at the two highest dosages: delayed onset of puberty, and at the highest dosage: loss of complete litter	n.r.	Das et al. [180]
PFNA	Rats	1, 3, and 5 mg/kg/day; for 14 days	Cell apoptosis in the testes and imbalance between testosterone and estradiol	n.r.	Feng et al. [183]
PFDA	Mice	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, and 16, 32 mg/kg BW/day; GD 10 to 13 and 0.03, 0.3, 1, 3, 6.4, and 12.8 mg/kg BW/day; GD 6 to 15	No deformities or other developmental toxic effects; the applied dosages also did not show toxic effects in the maternal animal	n.r.	Harris and Birnbaum [182]
8:2 FTOH	Rats	n.r.	Only mild effects similar to those caused by PFOA	200	Mylchreest et al. [58] cited in Lau et al. [115]

GD, gestation day; n.r., not reported; upward arrow, increased; downward arrow, decreased. ^aNOAEL/LOAEL, not reported in milligrams per kilogram body weight per day.

exposures. The progeny were placed in a water labyrinth, and immunohistochemical analysis was undertaken. The authors came to the conclusion that pre- and postnatal exposures to PFOS impair spatial cognition and memory. The mechanism could be related to a reduction in *N*-methyl-D-aspartate receptor 2B [NR2B] concentration in the cortex and hippocampal region of the brain [192].

In a subsequent study, the authors investigated the effects of PFOS exposure on gene expression of calcium-dependent signal molecules in the hippocampus during gestation and in the lactation period on Wistar rats. By use of the cross-foster method, rats were pre- and postnatally exposed to 3.2 mg PFOS/kg of feed. The expression of NR2B, calmodulin, Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase II α , and cAMP-response element binding protein were examined by real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction. Changes in gene expression of these molecules were detected at various time points during exposure to PFOS. It is therefore possible that perinatal PFOS exposure during a critical phase of brain development exerts a neurotoxic effect on the central nervous system via the molecules of the calcium signal pathway [193].

Pinkas et al. [194] also confirmed the existence of neurotoxic properties of PFOS and PFOA in developing

chickens. The authors observed the impairment of cognitive performance in hatched chicks that had been exposed to PFOS or PFOA (5 or 10 mg/kg) *in ovo*. Imprinting behavior was tested on the day of hatching, and impairment was observed after treatment with both of the substances. In order to learn more about the mechanism behind these effects, experiments were undertaken on protein kinase C [PKC] isoforms (α , β , γ) in the intermedial part of the *hyperstriatum ventrale*, the region most closely associated with imprinting. Exposure to PFOA resulted in significant increases in the cytosolic PKC concentration of all three isoforms. In spite of the general increase in PKC expression, the membrane-associated PKC remained unaffected, suggesting a defect in PKC translocation. In contrast, PFOS exposure resulted in reduction of cytosolic PKC, particularly in the β - and γ -isoforms, but again without any changes in the membrane-associated enzyme. Based on these results, PFCs do appear to be developmentally toxic. They lowered the cognitive performance after hatching. The synaptic mechanisms behind these effects seem to be different for PFOS and PFOA [194].

Effects on the endocrine system

The first reports of the effect of PFCs on thyroid hormones were from Langley and Pilcher [195] and Gutshall et al. [196].

Rats that had received a dose of PFDA were found to have significantly reduced T_4 and T_5 concentrations, lower body temperature, and a slower heartbeat than control animals. Treatment with T_4 was not able to reverse the hypothermia. Other studies on rats also showed that PFOS exposure resulted in a reduction of T_4 and T_3 in serum. There is, however, no increase in TSH, a hormone that enhances formation of T_4 and T_3 . There is evidence that PFOS, similarly to PFDA, displaces the thyroid hormone from its binding protein as it circulates in the blood [115].

Weiss et al. [197] examined this subject and discovered that PFCs compete with T_4 in binding to the thyroid hormone transport protein transthyretin. This may explain the decline in thyroid hormone levels after treatment with PFCs. The binding potential of PFCs to transthyretin decreases in the order of PFHxS > PFOS/PFOA > perfluoroheptanoic acid > perfluor-1-octanoic sulfinate > perfluorononanoic acid and was approximately 12.5 to 50 times lower than that of the natural ligand of T_4 .

When looking at the expression of the thyroid hormone-related mRNA, Yu et al. [171] only observed changes in the expression of mRNA for transthyretin. The transcription level for transthyretin was 150% higher in PFOS-exposed rats than in control animals.

Chang et al. [198] discovered that the oral application of PFOS in rats results in increased tissue availability of thyroid hormone and an increased turnover of T_4 in connection with a reduction in the total amount of T_4 in the serum. Under these conditions, PFOS neither induced hypothyreosis nor did it alter the activity of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis.

Moreover, there is evidence that PFCs alter the biosynthesis of gender-specific steroid hormones. For example, application of PFOA to male rats for 14 days led to a reduction in serum and testicular testosterone and an increase in estradiol concentration in serum. Consequently, an increase took place in hormone synthesis in the liver via induction of aromatase. These hormonal changes most likely are connected to the occurrence of Leydig cell adenomas observed in chronic exposure to PFOA [115,185].

Benninghoff et al. [199] described an estrogenic mechanism for PFOA that could promote carcinomas in the liver of rainbow trout. In addition, PFNA, PFDA, and PFUnA behaved like estrogens in the *in vivo* vitellogenin-induction-bioassay. In the meantime, there is evidence that PFCs may act as weak xenoestrogens in the environment [115].

Wei et al. [200] described effects of PFOA on estrogen responsive genes in the liver of minnows. The fish were exposed to 3, 10, or 30 mg/L PFOA for 28 days. PFOA interfered with the function of estrogen in the male fish

by inducing vitellogenin and the estrogen receptor β in the liver. It also caused a degeneration of the ovaries in female animals. Zhao et al. [201] showed that PFOA inhibits 3β -hydroxysteroid-dehydrogenase and 17β -hydroxysteroid-dehydrogenase in rat Leydig cells.

Furthermore, PFOA appears to stimulate the development of mammary glands in C57B1/6 mice by promoting steroid hormone production in the ovaries and by increasing the concentration of a number of growth factors in the mammary glands. The results of this study suggest an indirect estrogen effect of PFOA, the possible utility of progesterone biomarker for PFOA exposure of girls and women, and an independence of the PPAR α expression, for example, during tumorigenesis of the liver [202]. Maras et al. [203] established an estrogenic effect of 6:2 and 8:2 FTOH *in vitro*; however, it must be assumed that a different mechanism is responsible for this potential xenoestrogen than for the reference substance 17β -estradiol.

In a study of zebrafish (*Danio rerio*), Liu et al. [86] determined that 8:2 FTOH exposure interferes with sex hormone synthesis and impairs reproduction resulting in diminished hatching rates. Four-month-old zebrafish were subjected to 8:2 FTOH concentrations of 10, 30, 90, or 270 μ g/L for 4 weeks. Testosterone [T] and estradiol [E2] concentrations in the plasma of the female fish increased significantly, whereas T and E2 concentrations in males decreased or increased. Furthermore, egg numbers and sperm production were reduced; the eggshells were thinner; and the protein content and egg diameter were lower. Histological examination showed the promotion of egg-cell maturation and delayed spermiation. Gene transcription of FSH β and LH β in the pituitary gland was upregulated in female and downregulated in male fish. Increased gene transcription for vitellogenin and zona pellucida protein 2 in males is evidence of estrogen activity. In females, the gene transcription for these markers was reduced and was associated with reduced fertility [86].

It was shown in a study by Shi et al. [204] that PFDoA interferes with the reproductive function, testicular structure, and the genes for steroidogenesis in male rats. The rats were treated orally with 1, 5, or 10 mg PFDoA/kg BW/day.

Subsequent testing for chronic, oral exposure to PFDoA (over a period of 110 days) also showed inhibition of steroidogenesis in the testicles and of the expression of certain genes. Significantly lower testosterone concentrations in serum were detected in rats that received 0.2 and 0.5 mg PFDoA/kg BW orally per day. Many factors may play a role in inhibition of testosterone by PFDoA since these dosages of PFDoA reduced levels of the steroidogenic acute regulatory protein, cholesterol side-chain cleavage enzyme, mRNA

concentrations for insulin-like growth factor I [IGF-I], IGF-I-receptor, and interleukin 1 α [IL-1 α] and altered genes of the hypothalamic-neurohypophyseal system [205].

The EFSA assumes that thyroid tumors result secondarily due to hormone imbalances. It was not possible to draw a clear conclusion about the mammary gland tumors. Estradiol-activated growth factors may play a role in the development of Leydig cell tumors [15].

Immunotoxicity

Yang et al. [206-208] reported on the immunotoxic potential of PFOA in mice. Addition of a high dose of 0.02% PFOA to the feed for 7 to 10 days led to a loss of body weight and reduced mass of the thymus and the spleen. Thymus and spleen cells were reduced by more than 90% and by approximately 50%, respectively, probably as a result of inhibition of cell proliferation. The immature CD4⁺ and CD8⁺ populations of the thymus cells were most noticeably reduced. The T and B cells were affected in the spleen. An increase in liver weight and peroxisome proliferation occurred in a similar time course as the thymus and the spleen atrophy. Exposure to PFOA (50 to 200 μ M) for 24 hours *in vitro*, however, had no effect on the thymus and spleen cells [206].

Yang et al. [208] were also able to establish immunosuppressive properties of PFOA in *in vitro* and *ex vivo* experiments. Oral administration of PFOA in mice (10 days, 0.02% in feed) inhibited an increase in plaque formation by anti-IgM-IgG as well as an increase in serum concentration of IgM and IgG that normally occurs upon immunization with horse red blood cells. An attenuation of spleen cell proliferation by PFOA was demonstrated *ex vivo*. The T- and B-cell activators, lipopolysaccharide and concanavalin, serve as triggers for proliferation of spleen cells; however, no PFOA induced changes in proliferation were observed in spleen cells *in vitro* [208].

Fang et al. [209] discovered toxic effects of PFNA on the lymphatic organs, T cells, and secretion of cytokines by lymphocytes in mice. These are likely due to the activation of PPAR α and also PPAR γ . The hypothalamus-pituitary-adrenal axis also appears to play a role since increased serum concentrations of adrenocorticotrophic hormone and cortisol were detected in exposed mice. Likewise, cell-cycle arrest and apoptosis were observed in the spleen and thymus after PFNA exposure [209].

Peden-Adams et al. [210] administered six different PFOS dosages to mice for 28 days. However, the authors reported an increase in activity of natural killer cells only in male mice, and they saw a drop in IgM concentration. Lymphocyte proliferation remained unchanged in the male and female mice. In this study, it was also shown that PFOS induces immunotoxic effects at concentrations that have also been detected in humans

under special conditions of exposure (serum 91.5 μ g/kg; dose 1.66 μ g/kg BW/day). The NOAEL of suppression of the sheep red blood cell specific IgM production (plaque forming cell-response) was 0.166 μ g/kg BW/day for male animals. The PFOS serum concentration at this dosage was 17.8 ± 4.24 μ g/kg. It can be assumed that B cells are the target location for PFOS-induced immunotoxicity [210].

Keil et al. [211] came to similar conclusions in a study of the immunotoxic effects on the developing immune system in the F1 generation of exposed mice. The immunotoxicity of PFOS resulted in functional deficits in the congenital and humoral immune systems of adult animals born to mothers that had been orally administered 0.1, 1, and 5 mg PFOS/kg/day between the 1st and 17th day of gestation, a significantly reduced function of the natural killer cells. A reduced production of IgM was observed in the F1 generation from the eighth week of life onwards. The male progeny were significantly more sensitive to the effects triggered by PFOS than the female animals [211].

Qazi et al. [212] showed that even a comparatively short exposure over 10 days with high dosages of PFOS or PFOA (0.02% in the feed) in mice also suppresses adaptive immunity and increases the inflammatory reactions to lipopolysaccharides.

In a subsequent study, the authors found that under the conditions mentioned above, the immune modulating effects of PFOS are in part the result of PPAR α activation. For example, hepatomegaly (enlargement of the liver) occurs independently of PPAR α ; the changes in the thymus are partially dependent upon PPAR α ; and the effects to the spleen are for all practical purposes eliminated in the absence of the receptors [213]. Further information on the study by Qazi et al. can be found in Table 28.

Guruge et al. [214] exposed female mice to 5 or 25 μ g PFOS/kg BW/day for 21 days and then infected them with influenza virus A/PR/8/34 (H1N1). The mice were then examined for their defense against influenza A virus infection. The PFOS concentrations in the blood plasma, spleen, thymus, and lungs increased clearly after exposure to the substance (lungs $\approx$ plasma > spleen $\approx$ thymus). A significant loss of weight and mortality were observed as reactions to the virus. Twenty days after infection, the survival rate of the mice was 46% (control group), 30% (5 μ g/kg BW/day), and 17% (25 μ g/kg BW/day). The average survival time was 14.1 days (control group), 13.2 days (5 μ g/kg BW/day), and 11.4 days (25 μ g/kg BW/day). Studies that dealt with immunotoxicity are presented in Table 28.

DeWitt et al. [215] wrote a summary article on the immunotoxicity of PFOS and PFOA as well as the role of PPAR α in the process. There is a consensus that

Table 28 Studies on the immunotoxicity of PFOS and PFOA

Substance	Experimental animal	Dosage and length of exposure	Effects/dosage	Serum concentration according to dosage	Reference
PFOS	Mouse (C57BL/6)	5, 20, and 40 mg/kg BW/day; 7 days	Food intake, body weight ↓; liver mass, serum corticosterone concentration ↑; and from 20 mg/kg: lymphatic cells ↓, depression of natural killer cell activity, lymphocyte proliferation, and antibody forming plasma cells	110.5 to 338 mg/L	Zheng et al. [296]
	Male mouse (C57BL/6)	8.33, 83.3, 416, 833, and 2,083 µg/kg BW/day; 60 days	From 83.3 µg/kg BW/day: liver mass ↑, altered lymphocyte proliferation, and activity of natural killer cells: depression of antibody forming plasma cells NOAEL: 8.33 µg/kg BW/day, LOAEL: 83.3 µg/kg BW/day	0.674 ± 0.166 mg/L and 7.132 ± 1.039 mg/L ^a	Dong et al. [297]
	Mouse (B6C3F1)	0.166, 1.66, 3.31, 16.6, 33.1, and 166 µg/kg BW/day; 28 days	At the three highest dosages: activity of the natural killer cells ↑ in male mice, altered T cells, and IgM ↓ LOAEL: 1.66 and 16.6 µg/kg BW/day for male or female animals, respectively	0.092 ± 0.022 mg/kg ^b and 0.67 ± 0.11 mg/kg, respectively	Peden-Adams et al. [210]
	Female mouse (B6C3F1)	0.005 and 0.025 mg/kg BW/day	Body weight, immune resistance, and survival rate with influenza A virus infection ↓	2.1 ± 0.3 mg/L (control), 189 ± 14 mg/L, and 670 ± 47 mg/L	Guruge et al. [214]
	Male mouse (C57BL/6)	0.001% to 1% in feed; 10 days	At > 0.02%: clinical effects; at 0.02%: weight ↓, hepatomegaly, atrophy of the thymus, spleen, and fat tissue, thymus and spleen cells ↓ by 84% and 43%	50.8 ± 2.5 mg/L to 340 ± 16 mg/L	Qazi et al. [213]
	Mouse (B6C3F1)	7 mg/kg; 28 days	Weight gain ↓, liver mass ↑, and no detrimental effects on the adaptive immune system	11 mg/L	Qazi et al. [298]
	Rat	0.14 to 7.58 mg/kg BW/day; 28 days	Body weight ↓, liver weight ↑, lymphocyte apoptosis in the thymus ↑, T helper cells ↑, and B cells ↓	0.4 to 30 mg/kg male and 1 to 43 mg/kg female rats	Lefebvre et al. [299]
PFOS or PFOA	Male mouse (C57BL/6)	0.02% in feed; 10 days	Total number of white blood cells ↓, lymphocyte number ↓, neutrophilic granulocytes ↓ (only with PFOA), macrophage number in the bone marrow ↓ (but not in the spleen or abdominal cavity), and tumor necrosis factor α and interleukin 6 production ↑ mildly (ex vivo)	340 ± 16 mg/L (PFOS) and 152 ± 8.6 mg/L (PFOA)	Qazi et al. [212]
PFOA	Male mouse (C57BL/6)	0.02% in feed; 7 to 10 days	Body weight ↓, liver mass ↑, spleen and thymus mass ↓, and peroxisome proliferation ↑	n.r.	Yang et al. [206]
	Male mouse (C57BL/6)	0.02% in feed; 10 days	Immunosuppressive: plaque formation ↓, IgM- and IgG serum concentrations ↓, and proliferation of spleen ↓	n.r.	Yang et al. [208]
	Mouse	3.73, 7.5, 15, and 30 mg/kg BW/day; 10 days	T-cell dependent antibody reaction ↓ and no consequences of a stress-induced corticosterone production	n.r.	DeWitt et al. [216]
	Mouse	30 mg/kg BW/day; 10 to 15 days	IgM synthesis ↓	74 mg/L ^c at 3.75 mg/kg BW/day	DeWitt et al. [300]

n.r., Not reported; upward arrow, increase; downward arrow, decrease; ^a50 times higher than that of a human work-related exposure; ^b14 times lower than that of an exposed worker; ^c150 times higher than that of a heavy work exposure or environmentally contaminated human.

PFOA and PFOS influence the immune system. The immune modulation induced by PFOS and PFOA as observed in animal experiments involve changes in inflammatory response, production of cytokines and reduction in weight of the lymphatic organs, and changes in antibody synthesis. Additionally, there are indications from experimental studies that PFOA influences IgE-dependent allergic asthma. Furthermore, the role of corticosterone in PFOA-induced immunosuppression is questioned since the increased corticosterone concentration is accompanied by reduced IgM antibody titers, suggesting an immune response triggered by stress reaction. It was, however, shown by DeWitt et al. [216] that the suppression of antibody synthesis is not the result of liver toxicity nor of stress-induced corticosterone production.

In addition, it must be noted that different animal species show varying degrees of sensitivity to immunological effects. It has been shown that certain mouse strains are the most sensitive animals for immune modulatory effects of PFOA and PFOS. A few strains already showed changes at PFOA or PFOS serum concentrations that were about 100 times higher (for PFOA) or 15 times lower (for PFOS) than the concentrations that had been measured in exposed workers. This indicates that detailed studies on immunotoxicity in humans are necessary [215].

Hepatotoxicity and mode of action

Effects on the liver have often been observed in toxicological studies. For example, liver enlargement was seen in connection with hypertrophy and vacuolization of the liver cells and an increase in liver weight in studies on

subchronic and chronic toxicity. Most generally, rodents and nonhuman primates have been exposed to PFCs. In addition, hepatocellular adenomas occurred in rats.

In particular, liver tumors have been traced to the activation of PPAR α [115]. PPAR α occurs primarily in the liver and can be activated by long-chain polyunsaturated fatty acids or fibrates. As a consequence, there is an increase in the production of enzymes for fatty acid recovery, a formation of ketone bodies, and a reduction in protein synthesis for liponeogenesis [120]. Rats have a higher susceptibility to the PPAR α -based mechanism than humans. However, hepatocarcinogenicity can also be only partially attributed to this mechanism. This is corroborated by the fact that exposure to PFOA also caused an increase in liver weight in the PPAR α knock-out mice comparable to that in wild-type mice ([15,207,208] cited in BfR [17]). *In vitro* studies showed the following:

In Hep G2 cells, PFOA and PFOS (50 to 200 μ mol/L) induced the production of reactive oxygen species [ROS], the dissipation and/or scattering of the membrane potential of the mitochondria and apoptosis. The activity of the SOD, catalase, and glutathione reductase was increased; however, the activity of glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase was lowered. The glutathione content was reduced. A differential gene expression was observed after PFC exposure. The mechanism behind this could be an overload of antioxidative systems, stimulation of ROS formation, an influence on mitochondria, and interference of gene expression for apoptosis regulators that initiate the apoptosis program [217].

In the study by Eriksen et al. [218] on the genotoxic potential of PFCs in human HepG2 cells, an increase in intracellular ROS was only detected for PFOS, PFOA, and PFNA. However, PFOS and PFOA were not found to cause damage to DNA, and the increase in ROS was not concentration dependent. PFBS and PFHxA evoked neither ROS nor DNA damage. Only PFNA led to a weak increase in DNA damage at cytotoxic concentrations. However, this cannot be accounted for by generation of ROS [218].

Qian et al. [219] exposed human microvascular endothelial cells to PFOS. They found that PFOS induced ROS production in the cells which resulted in a reorganization of actin filaments and an increased endothelial permeability.

It must be assumed that PFOS and PFOA can function as agonists of PPAR α . In *in vitro* experiments, PFOS activated PPAR α [220,221] and led to peroxisome proliferation, as had been previously shown only in studies on rodents [108,222,223]. The hepatotoxic effects of PFOA in studies on rodents may also have resulted from the activation of peroxisome proliferation

[222-224]. This mechanism is more likely to apply to PFOA than to PFOS. In a study on rats, a concentration of 0.64 mg PFOA/kg BW/day and above was found to induce peroxisome proliferation, clearly illustrating the effect of PFOA as a PPAR α agonist ([141] cited in EFSA [15]). The activation of PPAR α leads to the expression of genes that are involved in lipid metabolism, energy homeostasis, cell differentiation, and peroxisome proliferation [225]. This mechanism can result in tumor induction by non-genotoxic carcinogens.

The fact that the PPAR α from mice, rats, and humans can be activated by PFOS and PFOA was also shown in a study by Vanden Heuvel et al. [221]. In these experiments, the respective PPAR expression plasmid was transfected with a luciferase reporter plasmid in mouse 3T3-L1 cells. The relative luciferase activity was measured after addition of increasing concentrations of possible PPAR agonists (e.g., 1 to 200 μ M PFOA). PFOS and PFOA had little or no influence on the induction of PPAR β or PPAR γ . The human PPAR α reacted most strongly, and the rat PPAR α , most weakly to PFOS and PFOA. Compared with the naturally occurring PPAR ligands, i.e., long-chain fatty acids such as linoleic and α -linoleic acid, PFOS and PFOA show only a weak effect on PPAR [221].

Shipley et al. [225] were also able to show the activation of human and mouse PPAR α by PFOS and FOSA. The test systems used were a COS-1-cell (green monkey kidney cell)-based luciferase reporter gene transactivation test and a rat liver cell model. The mean effective concentration (EC₅₀) was 13 to 15 μ M for PFOS with a little difference between PPAR α from mice or humans. Maloney and Waxman [226], using a similar test system, determined the maximum activity of mouse PPAR α by 10 μ M PFOA and humans by 20 μ M PFOA. These results were confirmed by a more recent study using similar methods. PFOS appeared less effective than PFOA for mice or human PPAR α . Neither PFOA nor PFOS could be shown to have a significant activating effect on PPAR γ [227]. In studies using transgenic mice, Nakamura et al. [228] indicated that the human PPAR α at relatively low concentrations (0.1 or 0.3 mg/kg) reacts less strongly to PFOA than the mouse PPAR α .

It is also possible that PFCs affect PPAR α by changes in lipid metabolism and transport. The metabolism of lipids and lipoproteins takes place in part in the liver, where PPAR α is also expressed. Additionally, long-chain fatty acids are the natural ligands for PPAR α . Thus, Lübker et al. [104] were able to show *in vitro* that PFOS, *N*-EtFOSA, *N*-EtFOSE, and PFOA could interfere with the binding affinity of the L-FABP to endogenous ligands (fatty acids), in the same manner as a strong peroxisome proliferator.

The connection between the activation of PPAR α by PFOS and the occurrence of hepatotoxic effects is, however, unclear since a number of inconsistencies appeared in regard to the dose-dependent changes. For example, liver toxicity and hepatocarcinogenicity were seen at PFOS dosages that were lower than those (200 to 500 mg/kg) that induced peroxisome proliferation in short-term studies of rats. Stimulation of peroxisome proliferation was not detected in rats with high cumulative PFOS tissue concentrations. This can likely be explained by an adaptive downregulation of hepatic peroxisome proliferation that resulted from PFOS treatment *in vivo* [115]. This mechanism also does not seem to be responsible for the observed liver toxicity following PFOS exposure in monkey. For example, in a study using cynomolgus monkeys, hypertrophy and lipid vacuolization was observed in the group that received 0.75 mg PFOS/kg/day but without peroxisome proliferation or increase in palmitoyl-CoA-oxidase activity [128].

In addition, induction of a number of liver enzymes (carboxylesterase, cytochrome P450, acyl-CoA-oxidase and -dehydrogenase, as well as carnitine-acetyl-transferase) was observed. Reduction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Co A reductase could explain the decrease in cholesterol and triglyceride concentrations [229]. Gene expression studies on rat liver cells showed that PFOS causes changes especially in the genes that play roles in peroxisomal fatty acid metabolism, hormone regulation, and transcription of various cytochrome P450 forms [230].

In regard to PFOA, the correlation of hepatotoxic effects and activation of PPAR α is also not consistent. For example, in a study on the cynomolgus monkey, liver mass was seen to increase in association with mitochondrial proliferation at the lowest applied dosage (3 mg/kg/day for 26 weeks). The underlying mechanism could not be explained because the peroxisomal markers remained unchanged ([146] cited in EFSA [15]). In addition, the results of another study suggest a PPAR α -independent mechanism for induction of hepatomegaly by PFOA in mice. The increase in liver weight correlated with the exposure to PFOA or a classical peroxisome proliferator in wild-type mice. This effect did not occur in the PPAR α knockout mice; however, this was only true for the peroxisome proliferator, not for PFOA. The hepatomegaly observed in the PPAR α knockout mice could, however, also be the result of an accumulation of lipid droplets or PFOA in the liver. PFOA also interferes with lipid and lipoprotein metabolism by activating the PPAR α . The normal lipid metabolism equilibrium in mammals is disrupted by the induction of enzymes ([230] cited in EFSA [15]). Studies on gene expression in the rat liver show that exposure to PFOA causes induction of all genes that are connected with

metabolism and transport of lipids, in particular fatty acids [230-233]. For example, PPAR α activation upregulates a gene that is responsible for the formation of lipid droplets in many cell types. An increase in the number of lipid droplets in the liver that resulted from the changes in lipoprotein metabolism could be detected in the PPAR α knockout mice and might explain the rise in liver weight after exposure to PFOA [234].

In the study by Minata et al. [235], a 4-week application of APFO (12.5, 25, and 50 μ mol/kg/day) to PPAR α null mice caused damage to hepatocytes and the bile duct. In wild-type mice, dosages of 25 and 50 μ mol/kg/day resulted in more severe dose-dependent hepatocellular damage and less striking impairment of the biliary tract. PPAR α null mice that had been exposed to PFOA exhibited marked fat accumulation, severe damage to the biliary tract, hepatocellular damage, and apoptotic cells, most prevalently in the biliary tract. At 50 μ mol/kg/day, the oxidative stress was also increased by a factor of 4 in these animals; and at 25 μ mol/kg/day, TNF- α mRNA was upregulated by a factor of 3. The bile acid/phospholipid ratio was higher in these animals than that in wild-type mice. These results suggest that PPAR α may actually protect against effects of PFOA and plays a critical role in xenobiotic-induced hepatobiliary damage [235].

A further study by Elcombe et al. [236] indicates that PFOA possesses the properties of a mixed enzyme inducer. It induces various cytochrome P450 types in liver microsomes. This induction profile implies a reaction of PFOA with various receptors of the super family of nuclear hormone receptors, in particular with PPAR α , constitutive androstane receptor [CAR], and pregnane-X receptor [PXR] [236]. Ren et al. [237] were able to show the activation of PPAR α , CAR, and PXR by PFCs in rats, but not in chickens or fish. Furthermore, the PFOS-induced gap junctional intercellular communication [GJIC] and *in vivo* (GJIC) inhibition observed *in vitro* in the rat liver may be of importance in liver carcinogenesis [115,238]. This process is used by cells to exchange ions, secondary messengers, and other small molecules. In multicellular organisms, GJIC plays a role in tissue homeostasis, normal growth, development, and differentiation. An *in vitro* study by Upham et al. [239] showed a dysregulation of GJIC by PFOA that resulted from the activation of the extracellular receptor kinase and phosphatidylcholine specific phospholipase. This evidence suggests that PFOA may also have an effect on GJIC *in vivo*. Inhibition of GJIC appears to only be a property of PF with a chain length of 7 to 10 carbon atoms. For example, PFPeA did not exhibit inhibitory effects on GJIC and did not cause hepatomegaly [239]. The meaning of this widespread and reversible mechanism in carcinogenesis of PFOS or PFOA is, however,

still unclear [15,115,185]. Experiments on the importance of the length of the carbon chain of different PFCs for liver toxicity and peroxisome proliferation in mice and rats suggest that longer chain molecules are more toxic due to their accumulation in the liver [115,240-242].

Combination effects

Wei et al. [243] studied the combined action of PFCs (PFOA, PFNA, PFDA, PFDoA, PFOS, 8:2 FTOH at a concentration of 5 mg/L each). The authors created a gene expression profile using a DNA microarray to detect changes in cultivated hepatocytes from minnows. The fish were treated with four mixtures of these substances or with each substance individually. The study showed that, in fact, certain genes were regulated by the mixture that were unaffected by the individual substances. The effected genes are involved in fatty acid metabolism and transport, in xenobiotic metabolism, in the immune response, and in the emergence of oxidative stress [243].

In another study exposure to a mixture of PFOS and PFOA (50 to 200 µmol/L each) induced and expedited cell apoptosis more effectively than did exposure to the individual substances. This suggests summation effects that, however, appear to be neither synergistic nor antagonistic. Therefore, the effect on the cells was stronger with the mixture than with PFOS or PFOA alone [217].

Using a micronuclear test, Jernbro et al. [244] investigated whether the presence of PFOS increased the genotoxic potential of cyclophosphamide [CPP] in hamster V79 lung cells. Up to a concentration of 12.5 µg/mL PFOS did not show any genotoxic effects. However, after metabolic activation, a combination of PFOS and two different dosages of CPP (1.25 and 2.5 µg/mL) resulted in a greater number of micronucleus containing cells than in cells treated with CPP alone. PFOS induced changes to the cell membrane, and the ensuing changes in the uptake of toxic substances may play a role in these observations [244].

Watanabe et al. [245] examined the effect of co-exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin 2, 3, 7, 8-[TCDD] and PFOS or PFOA on expression of cytochrome P450 isoforms (monooxygenases) in a chicken embryo hepatocyte culture. PFOS or TCDD alone did not induce mRNA production of CYP4V2; however, administration of 40 to 50 µM PFOS plus 0.3 nM TCDD did. A combination of TCDD and PFOA behaved exactly the same way. PFOS caused an increase in CYP1A4 mRNA with or without TCDD co-exposure. The authors suspect a complex gene response to the combined exposure of multiple xenobiotics [245].

Epidemiological studies

Epidemiological studies have been primarily carried out on groups of people who are occupationally exposed to

PFCs. These took place, for example, in the course of medical monitoring studies of workers in the fluorochemical industry. The workers were principally from the PFC manufacturing company, 3M, in Decatur, Alabama, USA and Antwerp, Belgium. In particular, biochemical parameters for liver damage or interference with lipid metabolism were examined. Furthermore, hormonal changes and cancer death rates and/or tumor incidence were at the center of interest. Recent studies have also examined possible reproductive toxicities. The significance of these epidemiological studies is, however, limited because of the small number of participants, mostly males due to the working structure in the companies, and the problematic classification of exposure [17,115].

Studies on biochemical parameters and mortality rates

An epidemiological study was carried out on 2, 083 workers in a factory in Decatur in which perfluorooctane sulfonylfluoride [POSF] is manufactured and processed. The workers had been employed for at least one year in the company and had been exposed to POSF-based materials by inhalation, skin contact, and/or ingestion. The various workplaces were categorized according to the amount of exposure as determined by analysis of serum samples of the individual workers. A total of 982 people (47%) were subjected to a relatively high POSF exposure at their workplaces. The proportion of males in this subcohort was 84%. Of a total of 145 deaths, 65 (45%) were of these workers with high PFOS serum concentrations (*ca.* 0.6 to 2 mg/L). This group had a risk of urinary bladder cancer 13 times higher than did the general population of Alabama. This is based on three deaths compared to 0.23 expected cases of bladder cancer (standard mortality rate [SMR] = 12.8). The workers with cancer carried out maintenance work in the factory and worked in the area of the incinerator and sewage treatment plant. It is, however, possible that the workers were also exposed to other bladder cancer-producing compounds outside of the workplace. Other mortality rates in this study were below the statistically expected number of deaths. For example, there were five cases of liver cirrhosis among the total number of participants (SMR 0.85). In animal experiments, however, the liver was identified as the target organ of PFCs [15,246].

In the follow-up study, 11 cases of bladder cancer were documented among the total of 1, 588 participants. Eight cases would be expected statistically. Three of the bladder cancer victims had worked for more than a year at jobs with high PFOS exposure (mean serum concentration 1.3 to 1.97 mg/L). Nonetheless, the correlation between PFOS exposure and increased risk of bladder cancer was not significant [247].

Grice et al. [248] were unable to detect an association between occupational PFOS exposure and the

occurrence of skin, breast, prostate, or intestinal cancer in workers at a PFC-producing company. In addition, there was no correlation between PFOS exposure and the state of health or the course of pregnancies and birth weight. This study was undertaken with the use of questionnaires and medical reports and, as in the study by Alexander et al. [246], encompassed 2, 083 workers of a POSF-processing factory in Decatur [248].

The first retrospective cohort study on mortality of employees of the PFOA-producing factory of 3 M was carried out by Gilliland and Mandel [249]. Participants in the study (2, 788 men and 749 women) were required to have worked for at least 6 months in the factory between 1947 and 1983. In this time period, 398 workers died (348 men and 50 women). Eleven and 148 of the deceased women and men, respectively, had been exposed to APFO. The SMR for prostate cancer (2.03) was increased, based on four deaths out of 148 cases of APFO-exposed workers. The expected frequency would have been 1.97. The relative prostate cancer risk for a one year longer period of employments was 1.13 and rose to 3.3 for workers who had been employed there for over 10 years. The SMR value for other causes of death was not significantly increased [249].

An update of this study was undertaken by Alexander [250] in order to record the deaths that occurred by 1997. The 3, 992 employees were divided into three exposure categories: definite exposure, possible exposure, and exposure not expected. The 607 deaths were allocated to these three categories (46, 267, 294). Regarding all workers, the highest SMR (1.31) was for bladder cancer. A few of the SMR values were elevated in the group that was definitely exposed. For example, two deaths resulted from colon cancer (SMR 1.67), one from pancreatic cancer (SMR 1.34), and one from prostate cancer (SMR 1.3). In the group with possible exposure, elevated SMR values were obtained for cancers of male sexual organs (2.75), pancreas (1.24), and skin (1.42). The results are difficult to interpret because of the changing, more specific exposure categories. The previously determined significant association between prostate cancer and time of employment could not be confirmed in this study [15].

A recent epidemiological study was undertaken by Lundin et al. [251]. The authors examined the correlation between the APFO exposure of 3, 993 workers in the 3 M factory in Minnesota and the rates of mortality. This study differed from that of Gilliland and Mandel [249] because of newer data and increased exclusion of workers with only short times of exposure. The workers were divided into three exposure categories: definite exposure, possible exposure, and workplace without exposure. APFO exposure was not associated with liver, pancreas, or testicular cancer but presumably with

prostate cancer, cerebral vascular disease, and diabetes mellitus [251].

Studies by DuPont [252] provide little information about correlations of PFOA exposure at the workplace and death rates or incidence of cancer since data on exposure, contact with other substances, and lifestyle were missing. Significant differences regarding exposure were shown for bladder and kidney cancer [15,115]. A subsequent study indicated increased SMR values for kidney, liver, and bladder cancers; however, the only significant increase in rate of death was from diabetes mellitus ([253] cited in Lau et al. [115]). No significant liver toxicity was found in a further study by Gilliland and Mandel [254] of 115 males, occupationally PFOA-exposed study participants with PFOA serum concentrations of (0 to 26 mg/L; mean 3.3 mg/L), although hepatotoxic effects often occurred in studies of rats. Total fluorine values were measured since 90% of those in serum are made up of PFOA. The enzymes of the liver (serum glutamate oxaloacetate transaminase, serum glutamate pyruvate transaminase, gamma glutamyltransferase), the lipoproteins (LDL, HDL), and the cholesterol values were within the normal zone of fluctuation. Possible disturbance variables such as body mass index [BMI] and tobacco and alcohol consumption were taken into account. Based on the enzyme profiles, the authors suspected that PFOA possibly modulates the reaction of the liver to obesity and xenobiotics [254].

Olsen et al. [68] examined similar parameters in connection with the PFOS serum concentrations in workers involved in the production of fluororganic compounds at 3 M. In 1995, the PFOS mean concentration for 178 male workers was 2.19 mg/L, and in 1997, the concentration for 149 workers was 1.75 mg/L. No explicit changes in liver enzymes, cholesterol, or lipoproteins in serum could be detected in the serum of workers with PFOS concentrations below 6 mg/L [68].

One year later, a study was published by Olsen et al. [255] on workers in the production of APFO. The mean PFOA serum concentration was 5 mg/L (1993), 6.8 mg/L (1995), and 6.4 mg/L (1997). Cholecystokinin concentration in plasma was also determined. It was assumed that pancreatic adenomas of the acinar cells observed in animal studies were caused by a steady increase in cholecystokinin that resulted from hepatic cholestasis (bile congestion). However, the cholecystokinin values (average 28.5 ng/L) were within the reference range and were negatively coordinated with increasing PFOA concentrations. The measured PFOA concentrations, therefore, did not appear to cause a hepatotoxic effect. The previous suspicion that PFOA modulates the reaction of the liver to obesity and alcohol consumption could not be confirmed. The weak points in the study were the small number of workers (17), the relevant experimental

data for whom encompassed only three years, the low rate of participation in the study (50% to 70%), and the low number of participants with serum concentrations over 10 mg/L [255].

Olsen et al. [69] then linked PFOS and PFOA serum concentrations with data from medical examinations of workers in one plant. The mean serum concentrations of PFOS and PFOA of the 263 workers in Decatur were found to be 1.32 mg/L and 1.78 mg/L, respectively. The serum concentrations of the 255 workers at the plant in Antwerp were approximately 50% lower. After taking into consideration possible disturbance variables (age, BMI, cigarette, and alcohol consumption per day) no conspicuous changes in the blood, lipid, liver, thyroid, or urine parameters were noted [69].

Possible weak points in the study of Olsen et al. [69] were taken into consideration in a following study by Olsen and Zobel [256]. Since the intention was to measure cholesterol levels, persons who took cholesterol-lowering drugs were excluded. The calculations of LDL were not coupled to triglyceride values, and data on PFOA were also gathered both in Antwerp and Decatur. The study comprised 506 workers at 3 M factories in Antwerp, Minnesota and Alabama who took part in a 'fluorochemical medical surveillance program.' PFOA serum concentrations were between 0.007 and 92.0 mg/L. The total cholesterol or LDL concentrations were not significantly altered with increasing PFOA concentrations in the serum after removal of the disturbance variables such as age, BMI, and alcohol consumption ($P > 0.05$). HDL was negatively correlated with PFOA in the workers at all three locations, but not in employees at each individual location. This may be explained by demographic differences between the locations. The positive correlation of triglyceride values with PFOA serum concentrations of the workers appeared similar. There was no statistically significant correlation between the concentrations of PFOA and liver enzyme activities. Only for the employees at one of the locations was a weak positive association apparent. Results were inconsistent for thyroid hormones. TSH and T_4 concentrations showed no correlation to PFOA levels. Free T_4 was negatively associated to PFOA, whereby increases in T_3 concentrations were correlated with increased PFOA values. Nonetheless, thyroid hormone levels were within the range of reference values [132].

Olsen et al. [257] looked for potential correlations between PFOA exposure and changes in hormone levels in male PFOA production workers. The focus of the study was on a drop in T_3 and T_4 levels and estrogen-like effects. The study showed an increase in mean estradiol concentration of approximately 10% at the highest PFOA serum concentrations (> 0.03 mg/L) in the 191 workers. This relationship, however, could have

been influenced by the BMI. No PFOA concentration relationships were found for other hormones. The weak points in this study were the cross-sectional design that led to the low number of participants with high blood PFOA concentrations [257].

In regard to blood lipids, liver enzymes, and occupational exposure to APFO, Sakr et al. [258] detected an increase in total cholesterol (10.6 mg/L per 1 mg/L PFOA) and aspartate aminotransferase (0.35 U per 1 mg/L PFOA) in serum. After adjusting for possible influencing factors, an association of PFOA concentrations and triglyceride or lipoprotein levels was no longer recognizable. Total bilirubin was reduced by 0.08 mg/L per 1 mg PFOA/L serum in exposed persons.

Because of the correlation between APFO exposure and increased lipid concentrations in serum, Sakr et al. [259] examined the association of APFO exposure and incidence of ischemic heart disease. The study cohort comprised 4,747 workers from the DuPont Washington Works. However, no evidence was found of an increased mortality risk for ischemic heart disease in the exposed workers [259].

Costa et al. [260] evaluated medical surveillance reports for the years 1978 to 2007 from workers who had been employed in the PFOA-producing industry. The study population comprised 53 male workers who had received a medical examination each year and for whom blood tests for various parameters and for PFOA concentrations were available. In the most recent study from 2007, the PFOA concentrations of workers presently employed were 0.2 to 47 mg/L (mean value 5.71 mg/L), and for previously exposed workers, 0.53 to 18.7 mg/L (mean value 4.43 mg/L). No clinical evidence was found to indicate a correlation between PFOA concentrations and illness in the 30 years of observation. Biochemical parameters for liver, kidneys, and hormonal functionality were also within the reference range. However, significant correlations between the PFOA serum concentration and the total cholesterol and uric acid levels were detected, as had also been previously reported by Sakr et al. [258]. This is suggestive of an effect of PFOA on purine metabolism in the liver [260].

Very few epidemiological studies exist with data from the general population. In a study by Bloom et al. [261], they compared concentrations of various PFCs (PFDA, PFNA, PFHpA, PFHxS, PFOA, PFOS, FOSA, PFUnA) as well as free T_4 [FT_4] in the blood of 31 fishermen from New York. The background of this study is the crucial role played by the thyroid hormones in the neuronal development of human beings. A statistically significant correlation was not found between any of the PFCs examined or the sum of all the substances and TSH or FT_4 concentration. There is a possibility, however, that a weakly positive correlation exists between FT_4 , PFDA,

and PFUnA, detected in low concentrations (0.21 and 0.2 µg/L) in the blood of the fishermen.

Based on possible effects of PFCs on the thyroid, Pirali et al. [262] examined PFOS and PFOA in surgical thyroid samples from patients with diseases of the thyroid. The substances were detected in all samples. The mean concentration for PFOS was 5.3 µg/kg, and for PFOA, 2.0 µg/kg. There was no correlation between the intrathyroidal PFC concentrations and the occurrence of thyroid diseases. For PFOS, a correlation between the tissue and serum concentrations was established. The serum concentrations were always higher than the respective surgical tissue samples.

Melzer et al. [263] also investigated a correlation between the occurrence of thyroid diseases and PFOS and PFOA in 3,974 adults from the NHANES. The authors came to the conclusion that higher PFOA and PFOS serum concentrations were associated with a thyroid disease in adults of the general US population. More women with blood concentrations of ≥ 5.7 µg PFOA/L were found to have currently treated thyroid disease than women with ≤ 4.0 µg/L of blood levels. More men with blood concentrations of PFOS ≥ 36.8 µg/L also had diseases of the thyroid than men with concentrations ≤ 25.5 µg/L. The correlation with PFOS in women was not significant [263].

Test persons from the general public that had been contaminated with higher concentrations of PFOA^f in drinking water had distinctly higher serum values (mean 354 µg/L) than the average population in the US (mean 4 to 5 µg/L). A blood count was made; biochemical parameters were recorded; and the subjects were interviewed. No statistically significant correlations could be found between the PFOA serum concentration and the values from liver and kidney tests, or with cholesterol or TSH concentrations in serum or with the blood count in regard to red or white blood cells or thrombocytes when compared to standard reference values from the general population. PFOA concentrations were not elevated in persons with liver or thyroid illnesses ([264] cited in BfR [17]).

Nelson et al. [265] established a positive association between PFOS, PFOA, and PFNA and total cholesterol, LDL, and very LDL [VLDL] levels. The participants from the highest PFOS quartile (44.8 ± 28.0 µg/L) had 13.4 mg/dL higher total cholesterol concentrations than the participants from the lowest quartile (9.6 ± 2.9 µg/L). The differences were 9.8, 13.9, and -7.0 mg/dL for PFOA, PFNA, and PFHxA. Thus, an opposite result was detected for PFHxS. The authors did not find any correlations between PFC concentrations and BMI, hip measurement, or insulin resistance.

Steenland et al. [266] also detected increased blood-lipid levels in connection with elevated PFOA and PFOS

concentrations in the blood. HDL was the only exception to this.

The study comprised 46,294 persons who had been residents for more than 18 years and who drank water contaminated with PFOA by a chemical factory in West Virginia. The mean PFOA and PFOS serum concentrations were found to be 80 µg/L and 22 µg/L. The cholesterol level increased from 11 to 12 mg/dL, from the lowest to the highest decile for both substances.

Elevated PFOA serum concentrations were also associated with a higher prevalence of hyperuricemia. The uric acid level increased by 0.2 to 0.3 mg/dL, from the lowest to the highest decile of PFOA or PFOS concentration [267].

Anderson-Mahoney et al. [268] examined 566 persons who also had been exposed to PFOA via drinking water^g. In a questionnaire, the participants were asked about their medical anamnesis. There was evidence that exposed persons more often suffered from angina, myocardial infarctions, chronic bronchitis, shortness of breath, and asthma. Further studies will be necessary to determine whether PFOA is the cause of the increased prevalence of these effects in PFOA-exposed persons [268].

Additionally, Lin et al. [269] showed a correlation between PFCs and glucose homeostasis, as well as other indicators of metabolic syndrome. In the general population, elevated PFNA serum concentrations were associated with hyperglycemia, correlated positively with HDL levels in serum, and correlated inversely with the prevalence of metabolic syndrome. Increasing PFOA serum concentrations increased the β -cell function. Elevated PFOS serum concentrations increased the insulin level in the blood, insulin resistance, and β -cell function and was negatively correlated with serum HDL cholesterol values [269].

McNeil et al. [270] pursued the results of a study that established an increased diabetes mortality rate in PFOA-exposed workers. Based on 22 diabetes deaths, employees of the Washington Works exhibited twice the mortality rate over other non-exposed workers [271]. The study population ($n = 54,468$) comprised participants in the C8 health project. A total of 1,055 people had type II diabetes and before diagnosis, had lived in the area of elevated PFOA contamination, most likely the result of contaminated drinking water. The PFOA serum concentration for these individuals was found to be 0.028 mg/L (mean) in contrast to 0.004 mg/L for the general population of the USA. Table 29 lists the PFOA serum concentrations of the participants in this study.

Diabetes prevalence amounted to 7.8%. A decreasing risk of diabetes was found for the highest PFOA serum concentration compared with the lower values, but

Table 29 PFOA serum concentrations (mg/L) in relation to type II diabetes (from McNeil et al. [270])

PFOA serum concentration (mg/L)	All participants (n = 54, 468)	Self-reported type II diabetes (n = 4, 278)	Diagnosed type II diabetes (n = 3, 539)	Long-standing ^a resident with type II diabetes diagnosed in the last 10 years (n = 1, 055)
Mean	0.087	0.093	0.091	0.123
Median	0.028	0.030	0.033	0.049
Geometric mean	0.033	0.034	0.036	0.052

^aAt least 10 years in a region with elevated PFOA contamination.

without showing a consistent negative correlation. Taking age into account, however, this correlation could be reversed. A consistent pattern was not apparent for fasting serum glucose levels in connection with PFOA serum concentrations. Consequently, an unambiguous trend for diabetes risk in connection with PFOA serum concentrations did not emerge. However, a correlation cannot be dismissed on the basis of the results of this study since the data was limited due to the cross-sectional design, and a causal relationship cannot be excluded. For these reasons, the authors are planning further studies with an improved design [270]. The studies listed in the 'Studies on biochemical parameters and mortality rates' section are summarized in Table 30.

The US EPA also discussed existing epidemiological studies in 2005. Nevertheless, a consistent correlation between PFOS, PFOA, or APFO serum concentrations in humans and adverse health effects could not be observed.

According to the German BfR [17], only a few individual studies have shown statistically significant relationships between the concentration of liver enzymes, cholesterol level, HDL concentration, and triglyceride concentration or concentration of individual hormones in the human blood and the exposure to PFCs. In addition, the correlations could generally not be confirmed in subsequent studies and even contradicted the effects of the compounds observed in animal experiments [17]. More recent studies indicate correlations between PFC concentrations and diabetes and thyroid disease, as well as blood lipid and uric acid levels; however, these cannot be considered proven and will need to be confirmed in further studies.

Studies on reproductive and developmental toxicity

Grice et al. [248], in a written survey on exposure and the course of pregnancy, comprising 421 women who had been occupationally exposed to PFOS, did not find a correlation between the degree of PFOS exposure and birth weight of the children. One of the first studies published that analyzed the PFC concentration in the maternal blood and cord blood as parameters for the exposure of the fetus and/or newborn stemmed from Inoue et al. [54]. The authors examined 15 mother/child pairs in Japan and did not find a correlation between PFOS in the cord blood and birth weight or

concentration of thyroid hormones in the blood of the newborn. This may well be the consequence of the concentrations to be expected in cord blood and the relatively high limit of detection, 0.5 µg/L [54].

In the study by Fei et al. [57], 1, 400 selected mother/child pairs from the Danish 'National Birth Cohort' were examined in an attempt to find possible correlations between the concentration of PFOS and PFOA in the maternal blood during the first and second trimesters of pregnancy and the birth weight and risk of premature birth. A correlation between PFC concentration in the maternal plasma and birth weight of children from mothers of normal weight could only be shown for PFOA. The length of gestation was unrelated to PFOS or PFOA concentrations in the maternal blood [57].

Monroy et al. [56] also measured the PFC concentration in the blood of pregnant women in the 24th to the 28th week, at birth, and in the cord blood. PFOS and PFOA were detected in all samples. Also in this study, the PFOS serum concentrations were higher during gestation (18 ± 11 µg/L) than at the time of birth (16 ± 10 µg/L) and higher than in the cord blood (7.3 ± 5.8 µg/L). The differences were smaller for PFOA (24th to the 28th week of gestation 2.5 ± 1.7 µg/L; birth 2.2 ± 1.6 µg/L; cord blood 1.9 ± 1.5 µg/L). PFHxS was detected in 45.5% of the maternal samples and in 20% of the cord blood samples [56].

On the other hand, in a cross-sectional study, Apelberg et al. [55] found a weak inverse correlation between the concentration of PFOS and PFOA in the cord blood and birth weight, the ponderal index, and head circumference of 293 newborns. No correlation was found between the concentration of the substances and the birth length or gestation time. The results for birth weight were statistically corrected for influence factors such as the mother's smoking habits, diabetes, and hypertension. The authors recommend exercising caution when interpreting these results since the association of head circumference was only for vaginal births; the newborns were all healthy, and the variations in head circumference and birth weight were within the normal range [55]. Washino et al. [272] could also see a negative correlation between the *in utero* PFOS exposure and the birth weight of baby girls. A correlation between the PFOA concentration and the birth weight was not

Table 30 Epidemiological studies on biochemical parameters and mortality rates of humans related to PFC exposure

Effects	Study population	Results	Serum concentration (mg/L)	Reference
Death rates and incidence of cancer	2, 083 Workers in POSF production (USA); minimal time of employment is one year	Heavy-exposure group: deaths resulting from bladder cancer, 3; SMR, 12.8; and no increase in liver disease	PFOS, ca. 0.6 to 2 (GM)	Alexander et al. [246]
	Workers in POSF production (USA), 1, 400 questionnaires, and 188 death certificates	11 Cases of bladder cancer and 8 expected	PFOS, ca. 1.3 to 1.97	Alexander and Olsen [247]
	Workers in POSF production (USA); 1, 400 questionnaires	No association between PFOS and various forms of cancer, and no correlation between PFOS contamination and state of health, course of pregnancy, or birth weight	PFOS, ca. 0.1 to 1.97	Grice et al. [248]
	3, 537 Workers in POSF production (USA)	Elevated SMR for prostate cancer (2.03) and no significant correlation with other cancer or heart diseases	n.r.	Gilliland and Mandel [249]
	3, 992 Workers	All workers: elevated SMR for bladder cancer, 1.31; group with certain exposure: elevated SMR for colon, pancreas, and prostate cancers	n.r.	Alexander [250]
	4, 747 Workers	No clear evidence of increased risk of death that resulted from ischemic heart disease	n.r.	Sakr et al. [259]
	3, 993 Workers of the 3 M plant (USA)	No association with liver, pancreas, and testicular cancer and liver cirrhosis; elevated SMR for prostate cancer, cerebrovascular diseases, and diabetes	Certain APFO exposure is 2.5 to 5.2; possible APFO exposure is 0.3 to 1.5	Lundin et al. [251]
Endocrine effects	191 Workers, 111 in 1993 and 80 in 1995 (USA)	Increase (10%) in estradiol level at > 0.03 µg/mL PFOA (BMI as cofactor); for other hormones: no association with PFOA serum concentration	PFOA, 0 to 26; mean, 3.27	Olsen et al. [257]
Biochemical parameters	115 male workers (USA)	As related to enzymes in the liver, lipoproteins, and cholesterol, no significant indication of liver toxicity or dysfunction	Total fluorine concentration is 0 to 26; mean is 3.3	Gilliland and Mandel [254]
	178 Male workers in 1995 and 149 workers in 1997	No dramatic changes in liver enzymes, cholesterol, or lipoproteins in serum	PFOS, < 6	Olsen et al. [68]
	111 Male workers (1993), 80 male workers (1995), and 74 male workers (1997) in APFO-production	No changes in hepatic enzymes, cholesterol, or lipoprotein levels	PFOA 5 (1993), 6.8 (1995), and 6.4 (1997)	Olsen et al. [255]
	263 Workers of the 3 M factory in Decatur (USA) and 255 workers from the plant in Antwerp (Belgium)	No conspicuous changes in blood, liver, thyroid, or urinary parameters after correcting for possible interfering factors	Decatur: PFOS, 1.32 and PFOA, 1.78; Antwerp ca. 50% lower	Olsen et al. [69]
	506 Workers in the three 3 M factories in Antwerp, Minnesota, and Alabama	No significant correlation of PFOA with total cholesterol or LDL concentrations, liver enzymes, TSH, and T ₄ ; inconsistent results for HDL and triglyceride values; FT ₄ was negatively correlated with PFOA; and T ₃ elevation with increasing PFOA concentrations → within reference values	PFOA is 0.007 to 92.03; mean is 2.21	Olsen and Zobel [256]
	454 Workers with APFO exposure (USA)	Elevation of total cholesterol and AST levels; no correlation with triglycerides or lipoproteins	n.r.	Skar et al. [258]
	53 Male workers, from 1978 to 2007	No clinical evidence of dysfunction or disease; biochemical parameters for liver, kidneys, and hormonal functionality within reference values; and significant correlation between PFOA serum concentration and total cholesterol and uric acid levels	PFOA is 0.2 to 47.04 (2007); median value is 5.71	Costa et al. [260]
	371 Persons of the general public that were exposed to PFOA via drinking water	No significant correlation of PFOA concentration with liver or kidney function tests, cholesterol levels, TSH hormone level, or values for various blood cells	PFOA median value is 0.354	Emmett et al. [264]
	Participants in the NHANES study 2003/2004 between 12 to 80 years of age	Positive association between PFOS, PFOA, and PFNA and total cholesterol, LDL, and VLDL levels for PFHxS, a negative correlation	PFOA, 0.007; PFOS, 0.038; PFNA, 0.002; PFHxS, 0.005 (median)	Nelson et al. [265]

Table 30 Epidemiological studies on biochemical parameters and mortality rates of humans related to PFC exposure (Continued)

	46, 294 Residents for more than 18 years that drank water contaminated with PFOA by a chemical factory in West Virginia	Rising blood lipid values with increasing PFOA and PFOS concentrations in the blood	PFOA, 0.080; PFOS, 0.022	Steenland et al. [266]
	54, 951 Adult residents from Ohio and West Virginia exposed via drinking water	Elevated uric acid concentrations in the highest decile of PFOA or PFOS concentrations compared with the lowest	PFOA, 0.189; PFOS, 0.041	Steenland et al. [267]
Disease	566 Persons exposed to PFOA via drinking water	Increased occurrence of angina, myocardial infarction, chronic bronchitis, shortness of breath, and asthma	n.r.	Anderson-Mahoney et al. [268]
	General public comprising 474 adults and 969 juveniles in Taiwan	Correlation of PFCs with glucose homeostasis and other indicators of the metabolic syndrome	n.r.	Lin et al. [269]
	54, 468 Persons exposed to PFOA via drinking water, 1, 055 with type II diabetes	Reduced risk of diabetes mortality at high PFOA values; not consistent	PFOA, 0.028	McNeil et al. [270]
	28 Patients who had had thyroid operations	No correlation between intrathyroidal PFC concentrations and occurrence of thyroid disease	n.r.	Pirali et al. [262]
	3, 974 Adults of the NHANES study	High PFOA and PFOS serum concentrations associated with thyroid disease	PFOA, ≥ 0.0057 (women); PFOS, ≥ 0.0368 (men)	Melzer et al. [263]

n.r., Not reported; GM, geometric mean.

found. Hamm et al. [273] were unable to establish an association between the birth weight or gestation time and the maternal serum concentrations (mean values: PFOA 1.5 $\mu\text{g/L}$, PFHxS 0.97 $\mu\text{g/L}$, PFOS 7.8 $\mu\text{g/L}$). Nolan et al. [274] investigated the relationship between a PFOA-contaminated drinking water supply and the birth weight and gestation time. They did not find any indication for low birth weight or premature birth related to the water supply. The risk group comprised mothers from Washington County, Ohio. The drinking water there had a PFOA concentration 80 times higher (6.8 $\mu\text{g/L}$) than can be assumed for the general US population [274]. More recent studies by the authors, also dealing with the connections between the PFOA contamination of drinking water (customers of the Little Hocking Water Association) and the pregnancy complications, indicate an association of PFOA exposure, the incidence of anemia, and dysfunction of labor contractions [275].

Stein et al. [276] also described a connection between PFOA and PFOS serum concentrations of residents of the Mid-Ohio Valley (200 to 2, 006) who were exposed to PFOA in drinking water with self-reported courses-of-pregnancy descriptions. PFOA measurements for 1, 845 pregnant women and PFOS values for 5, 262 pregnant women were available. The mean PFOA concentration in serum was 49 $\mu\text{g/L}$, and the mean PFOS concentration was 15 $\mu\text{g/L}$. Neither the PFOS nor PFOA serum concentrations could be statistically correlated with miscarriage or premature birth. However, a weak association of PFOA with the development of preeclampsia and congenital defects^h was noted. A weak connection was also shown for PFOS and development

of preeclampsia. Mean PFOS concentrations exceeding 12.8 $\mu\text{g/L}$ were seen to increase the risk of reduced birth weight of newborns. It must be noted, however, that these associations were weak and imprecise and were based solely on reports made by the pregnant women [276].

Fei et al. [277] investigated the development of infants with the help of questionnaires that the mothers were to fill out when their children were between 6 and 18 months of age. These data were examined in connection with prenatal exposure to PFOA and PFOS. The authors could not find any differences in the development of the infants from mothers with high PFOA and PFOS blood concentrations (PFOA 7 to 42 $\mu\text{g/L}$; PFOS 43 to 107 $\mu\text{g/L}$) and children of mothers with low PFOA and PFOS blood concentrations (PFOA < 1 to 4 $\mu\text{g/L}$; PFOS 6 to 26 $\mu\text{g/L}$). The Apgar scores and point in time of developmental progress were similar for children of mothers with high PFOS and PFOA concentrations in blood as for children of mothers with low PFOS and PFOA blood concentrations. There was only a weak indication that children of mothers with high blood concentrations of PFOS began to sit without support at a later time point [277].

A further study by Fei et al. [278] suggests a possible impairment of fertility as seen in the PFOS and PFOA blood concentrations measured in the general population. The mean PFOS and PFOA plasma concentrations of women who planned to get pregnant were 33.7 $\mu\text{g/L}$ and 5.3 $\mu\text{g/L}$, respectively. The time until pregnancy was longer in the proband group with higher PFOA and PFOS contaminations [278].

Since PFOA was seen to cause impairment of lactation in mice, Fei et al. [279] examined PFOS and PFOA

concentrations in connection with duration of nursing in 1,400 nursing women. They discovered a decrease in duration of nursing in correlation with increasing PFC concentrations by women who had had repeated births. Whether PFOS or PFOA really reduces the ability to nurse or whether the correlation is reversed remains questionable.

Hoffman et al. [280] discovered an increasing risk of attention deficit hyperactivity disorder [ADHD] in children with elevated PFC serum concentrations. Data from the NHANES study from 1999 to 2000 and from 2003 to 2004 on ADHD and PFC blood concentrations

from 571 children between the ages of 12 and 17 were evaluated in this study. Forty eight children were reported to suffer from ADHD. The corrected odds ratios for an increase of 1 µg/L serum concentration of PFOS, PFOA, PFHxA, and PFNA were 1.03, 1.12, 1.06, and 1.32, respectively. The results of epidemiological studies on the correlation between PFC blood concentration and reproduction and developmental toxic effects are summarized in Table 31.

Olsen et al. [281] published a review article on epidemiological studies that dealt with the influence of PFCs

Table 31 Results of studies on reproduction toxicological effects of PFCs on humans

Effects	Study population	Results	Reference
Birth weight	Occupationally exposed women, USA	No correlation between extent of PFOS exposure and birth weight	Grice et al. [248]
	General population, Japan	No correlation between PFOS concentration in cord blood and birth weight	Inoue et al. [54]
	General population, Danish National Cohort	Correlation between the PFOA concentration in mother's plasma and birth weight; not detectable for PFOS	Fei et al. [57]
	General population, USA	Weak inverse correlation between concentrations of PFOS and PFOA in cord blood and birth weight	Apelberg et al. [55]
	General population, Canada	No correlation of PFC serum concentrations and birth weight	Monroy et al. [56]
	General population, Japan, 2002 to 2005	Negative correlation of <i>in utero</i> exposure to PFOS birth weight; not detectable for PFOA	Washino et al. [272]
	General population, USA	No indication of a connection between low birth weight and PFOA-contaminated drinking water	Nolan et al. [274]
	General population, USA, 2000 to 2006	Correlation between PFOS contamination and the risk of reduced birth weight	Stein et al. [276]
	General population, Canada	No correlation between PFOA, PFHxS, PFOS serum concentrations and birth weight	Hamm et al. [273]
	General population, Danish National Cohort	No correlation of PFOA and PFOS concentrations in mother's plasma with time of gestation	Fei et al. [57]
Gestation time	General population, USA	No indication of premature birth as a result of PFOA contamination via drinking water	Nolan et al. [274]
	General population, USA, 2000 to 2006	No connection of PFOS or PFOA serum concentration with miscarriage or premature birth	Stein et al. [276]
	General population, Canada	No correlation between PFOA, PFHxS, PFOS serum concentrations and gestation time	Hamm et al. [273]
	General population, Danish National Cohort	No difference in the development of newborns from mothers with high PFOA and PFOS concentrations and children of mothers with low PFOA and PFOS concentrations; sitting without support possibly delayed in children of mothers with high PFOS concentrations	Fei et al. [277]
Other aspects	General population, USA	Weak inverse correlation between concentrations of PFOS and PFOA in cord blood and the ponderal index or head circumference	Apelberg et al. [55]
	General population, Japan	No correlation between PFOS concentration in cord blood and concentration of thyroid hormones	Inoue et al. [54]
	General population, USA, 2000 to 2006	Weak correlation of PFOA concentrations and occurrence of miscarriages	Stein et al. [276]
	General population, USA, 2000 to 2006	Weak association of PFOA and PFOS serum concentrations with the occurrence of preeclampsia	Stein et al. [276]
	General population, 571 children between 12 to 15 years from the NHANES study, 1999 to 2000 and 2003 to 2004	Increased risk of ADHD for children with elevated PFOS, PFOA, PFHxA, and PFNA serum concentrations	Hoffman et al. [280]
Fertility	General population, Danish National Birth Cohort, 1996 to 2002	Fertility disorders related to elevated PFOA and PFOS plasma concentrations	Fei et al. [278]

on human fetal development. The authors compared the published results, listed the strengths and weaknesses, listed alternative possible explanations for published results, and suggested future studies. They came to the conclusion that future research activities on this subject will need to consider more carefully the physiology of pregnant mothers and the increased maternal plasma volume during pregnancy. In addition, participants from the general population with the highest PFOS and PFOA concentrations should be included in order to better recognize possible toxic effects [281].

Steenland et al. [282] also published a review of epidemiological studies on PFOA. The authors concluded that available studies provide consistent evidence of a weakly positive association of the PFOA concentration in serum with cholesterol and the uric acid levels, whereby the magnitude of the effect on cholesterol level is not correlated with the extent of exposure.

Apart from that, there are a few but inconsistent indications of a weakly positive correlation with the activities of liver enzymes. A majority of the results stem from cross-sectional analyses from which it is not possible to draw conclusions of causality. Two cohort studies of occupationally exposed workers do not provide unequivocal evidence of chronic disease; however, as a result of the small numbers of participants, the information they provide is limited.

There is a recent upturn in the number of publications on reproductive effects. The results from these studies are, however, inconsistent, and the observed adverse effects are weak. It is therefore concluded that the information provided by the results from previous epidemiological studies is limited and the data is inadequate to allow unambiguous conclusions to be drawn about the role of PFOA in the development of particular diseases [282].

Summary

The present general opinion is that the main route of PFC uptake is dietary with contaminated fish and game, constituting a majority of the exposure. Nonetheless, the representative data that would allow an estimation of dietary exposure is not available. Therefore, in 2009, the EU launched the research project, PERFOOD, with the aim of improving the level of awareness about PFCs in foods. Among other things, the migration of PFCs from packaging material into foodstuffs is also to be studied. Additionally, other less studied pathways such as skin contact with PFC-treated utensils and inhalation of indoor air in particular should also be further studied. Comparatively, little data is, however, presently available on these paths of exposure. According to previous studies, the total daily PFC uptake is in the range of 2 to 200 ng/kg BW/day for PFOS and 3 to 14 ng/kg BW/day

for PFOA. Admittedly, other PFCs such as FTOH or FOSE/FOSA may contribute to the internal contamination of humans. As a result of their lower body mass and increased hand-to-mouth contact, it may be assumed that the internal PFC contamination per kilogram body mass of children is greater than that of adults. In addition, PFOS and PFOA can cross the placental barrier and can pass into breast milk.

The quantitatively dominant component of PFCs in the human blood is PFOS. The PFOA concentrations are generally somewhat lower in the blood than PFOS concentrations. The linear forms of both so-called reference components are most commonly identifiable in blood samples. Geographic differences have been found for PFC serum concentrations in humans. Individual studies show a possible influence of diet on the degree of contamination with PFCs. An unequivocal correlation between age and blood PFC concentration is not evident. Gender-dependent differences are, however, probable. Men generally show a higher contamination with PFCs than women. The serum concentrations of these compounds appear to have risen over the last decades. Whether this trend will continue is presently unknown.

Animal experiments suggest that PFCs are relatively well taken up by the organism both orally and by inhalation. They accumulate primarily in the liver, and after increasing exposure, also in the blood, and other organs such as the kidneys. An explanation of the mechanism by which this distribution takes place involves the preferred binding of PFCs to serum albumin, L-FABP, and membrane structures in the liver. There is presently no evidence for metabolism of PFOS or PFOA. In contrast, there is increasing evidence for metabolism of FTOH. Differences in the excretion of PFCs have been found for different compounds and different species. PFOS is excreted more slowly than PFOA so that the latter has a shorter elimination half-life and higher rate of excretion. It can be assumed that branched chain molecules are more rapidly excreted than the linear isomers, which therefore tend to accumulate more. According to current knowledge, short-chain PFCs such as PFBS are also excreted more rapidly than long-chain PFCs. An active and sex-hormone-regulated mechanism for renal excretion of PFOA has been demonstrated in rats. Enterohepatic circulation appears to reduce the excretion rate of PFOS and PFOA as also shown in an experiment on rats.

Based on the results of animal experiments, the acute toxicity is considered modest. Diverse toxic effects were observed in longer-term animal tests. Hepatotoxic effects have often been described. In addition, lipid metabolism was often affected in experimental animals. Epidemiological studies have indicated effects of PFCs on glucose, urea, and/or uric acid metabolism; therefore,

it would seem that further studies on PFCs and metabolic processes are necessary. Tumor growth has been observed in experimental animals after chronic exposure. Most commonly the liver, Leydig cells, and mammary gland tissue have been involved. Evidence of the occurrence of particular cancer diseases, most often urinary bladder and prostate cancers, have been observed in individual epidemiological studies. The target organs of animals and humans appear to differ, aside from the pancreas that was seen to be prone to cancerous growth both in humans and in animals. In regard to carcinogenesis, a genotoxic mechanism cannot be assumed for PFOS and PFOA, but rather a tumor promoting effect and/or epigenetic process come into question. Animal studies show unmistakable reproductive and developmental toxic effects that were only partially found in epidemiological studies. There is presently no evidence of teratogenic effects. To more thoroughly understand the influence on human fertility and the development of newborn children, the results on reproductive toxicity from animal studies should be taken into consideration. Considering the results of animal experiments, neuro- and immunotoxic effects will have to be examined in future epidemiological studies. The trigger for hepato- and immuno-reproductive, reproductive, and developmental effects as well as carcinogenesis of PFCs may be partially or completely attributed to the activation of the PPAR α . Correspondingly, a change in expression of the genes that control lipid metabolism, energy homeostasis, cell differentiation, and peroxisome proliferation might be involved.

Apparently, different PFCs exhibit different toxicities. PFOS and linear isomers appear to be more toxic than PFOA and branched chain compounds, i.e., in comparison, PFOS and linear isomers exhibit a longer half-life than do PFOA and branched chain compounds and cause adverse effects at lower dosages. The data presently available regarding toxicology of PFCs other than PFOS and PFOA is in comparison meager, inhomogeneous, and fragmentary, particularly in light of the diversity of PFCs occurring in biological matrices.

Conclusions

There are a number of pathways by which PFC contamination of humans can take place including diet, food contact materials, non-food personal items, and indoor and outdoor air. Although a number of authors have attempted to calculate the contribution of these individual pathways to total contamination, the available data records are not presently adequate to allow sound conclusions to be drawn. In addition, the various authors have, to some extent, taken diverse approaches to the subject of dietary contamination. Some have assumed that consumption of fish and seafood are the main

source of PFC contamination in humans, whereas others have postulated that, particularly in regions in which only small amounts of fish are eaten, meat and vegetables are the primary source. There is, however, a general consensus that dietary uptake represents the largest contribution. Nonetheless, it will be necessary to establish the contribution of various foodstuffs to total exposure by comparing the data from studies that systematically determine PFC contamination of a large number of edible products. Studies that are limited to local or regional products are not adequate to describe the global exposure scenario. Toxicokinetic and toxicodynamic data of PFCs, aside from those for the so-called reference substances, PFOA and PFOS, are not consistent enough to allow a conclusive toxicological evaluation.

In recent years, numerous publications have appeared in which biological properties of PFCs are described; however, these are generally limited to PFOA and PFOS. These two substances are, to the best of our knowledge, the only PFCs that have been toxicologically examined in animal studies that would allow conclusions to be drawn about potential human toxicity. Data on short-chain PFCs that are apparently being substituted for longer chain molecules in industrial processes are, if available at all, only of a fragmentary nature. Because of their solubility in water and the increasingly wide spectrum and volume of their use, these short-chain PFCs deserve considerable study. This is particularly evident since they appear to be ubiquitously distributed throughout the water pathway and can thus lead to an increased background contamination of the environment. Additionally, PFCs are being used in mixtures with varying compositions, making toxicological evaluations much more difficult. For this reason, standardized *in vitro* and *in vivo* methods should be used and further developed in order to allow reliable conclusions to be drawn concerning the toxicity of the individual substances as well as of various PFC mixtures. Consequently, an adequate toxicological evaluation of the total situation is presently not possible.

Endnotes

^aThe LOD was not specified in the publication. ^bThe type of average was not specified. ^cWhether the dose was based on a kg BW is not evident from the description of the study. ^dCalculated according to the following formula: bile clearance (mL/hr/kg BW) = PFOA in the bile_{0-300 min} (nmol)/AUC_{0-300 min} (nmol·hr/mL)/kg BW. ^eThe age of the animals was not listed. ^fConcentrations and locations were not listed. ^gMore details were not presented. ^hThe types of congenital defects were not described.

Abbreviations

8-dG: 8-hydroxydesoxyguanosine; AFC: EFSA Panel on food additives; flavourings: processing aids and materials in contact with food; ALT: alanine aminotransferase; APFO: ammonium perfluorooctanoate; AST: aspartate aminotransferase; BfR: Bundesinstitut für Risikobewertung (Federal Institute for Risk Assessment); BMI: body mass index; BW: body weight; CAR: constitutive androstane receptor; COT: Committee on Toxicity of Chemicals in Food: Consumer Products and the Environment; ECF: electrochemical fluorination; EFSA: European Food Safety Authority; FDA: US Food and Drug Administration; FOSA: perfluorooctyl sulfonamide; FOSE: perfluorooctanesulfonamide ethanol; FT₄: free thyroxine; FTOH: fluorotelomer alcohol; GD: gestational day; GJIC: gap junction intercellular communication; HDL: high density lipoprotein; LADD: lifetime average daily dose; LC₅₀: lethal concentration with 50% lethality; LD₅₀: lethal dose with 50% lethality; L-FABP: liver type fatty acid binding protein; LH: luteinizing hormone; LOAEL: lowest observed adverse effect level; L-PFOA: linear PFOA; L-PFOS: linear PFOS; MTE: more typical exposure; N (or n): number (of samples); n.a.: not analyzed; n.d.: not detected; n.r.: not reported; N-EtFOSA: N-ethylperfluorooctyl sulfonamide; N-EtFOSE: N-ethylperfluorooctyl sulfonamide ethanol; NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey; NOAEL: no observed adverse effect level; OAT: organic anion transporter; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; PCB: polychlorinated biphenyls; PFBA: perfluorobutanoic acid; PFBS: perfluorobutanesulfonic acid; PFCs: perfluorinated compounds/polyfluorinated compounds; PFCA: perfluorinated carboxylic acids; PFDA: perfluorodecanoic acid; PFDDA: perfluorododecanoic acid; PFHpA: perfluoroheptanoic acid; PFHxA: perfluorohexanoic acid; PFHxS: perfluorohexanesulfonic acid; PFNA: perfluorononanoic acid; PFO: deprotonated PFOA; PFOA: perfluorooctanoic acid; PFOS: perfluorooctanesulfonic acid; PFPA: perfluorinated phosphonic acid; PFPeA: perfluoropentanoic acid; PFTDA: perfluorotetradecanoic acid; PFUnA: perfluoroundecanoic acid; POP: persistent organic pollutants; POSF: perfluorooctane sulfonyl fluoride; PPAR: peroxisome proliferator activated receptor; PTFE: polytetrafluoroethylene; PXR: pregnane X receptor; RME: reasonable maximum exposure; ROS: reactive oxygen species; SMR: standard mortality ratio; SOD: superoxide dismutase; T₃: tri-iodo thyronine; T₄: thyroxine; T-AOC: total antioxidant capacity; TDI: tolerable daily intake; TSH: thyroid stimulating hormone; UBA: Umweltbundesamt (German Environmental Protection Agency); US EPA: United States Environmental Protection Agency.

Acknowledgements

We wish to thank Dr. Roy Ackmann and Ms. Barbara Gamb of Hessian State Laboratory for their assistance in the extensive literature search.

Author details

¹Hessian State Laboratory, Glarusstr. 6, Wiesbaden, D-65203, Germany
²Hessian State Laboratory, Schubertstr. 60, Giessen, D-35392, Germany

Authors' contributions

TS had the idea to write such a review and drafted the manuscript. DM evaluated the original literature and participated in drafting the manuscript. HB structured this complex review in chapters and subchapters and participated in drafting the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 15 July 2011 Accepted: 6 December 2011

Published: 6 December 2011

References

- Fricke M, Lahl U: Risikobewertung von Perfluorotensiden als Beitrag zur aktuellen Diskussion zum REACH-Dossier der EU-Kommission. *UWSF-Z Umweltchem Ökotox* 2005, **17**:36-49.
- Fromme H, Schlumber M, Ungewiss J, Roscher E: Materialien zur Umweltmedizin-Umweltmedizinische Bedeutung perfluorierter Kohlenwasserstoffe (PFC), Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (Hrsg.), Band 16 der Schriftenreihe. 2006, ISBN 3-939652-12-1.
- Umweltbundesamt (UBA): Perfluorierte Verbindungen: Falscher Alarm oder berechtigte Sorge? Februar 2007, Dessau 2007.
- Umweltbundesamt (UBA): Per- und Polyfluorierte Chemikalien. Einträge vermeiden-Umwelt schützen. Juli 2009, Dessau-Roßlau 2009.
- Weinfürter K, Kördel W, Bücking M: Untersuchungen zum Übergang von PFT aus belasteten Böden in Pflanzen. *Bodenschutz. Ausgabe* 03 2008.
- Stahl T, Heyn J, Thiele H, Hühner J, Failing K, Georgii S, Brunn H: Carryover of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) from soil to plants. *Arch Environ Contam Toxicol* 2009, **57**:289-298.
- Trudel D, Horowitz L, Wormuth M, Scheringer M, Cousins IT, Hungerbühler K: Estimating consumer exposure to PFOS and PFOA. *Risk Anal* 2008, **28**:251-269.
- Tittlemier SA, Pepper K, Seymour C, Moisey J, Bronson R, Cao XL, Dabeka RW: Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging. *J Agric Food Chem* 2007, **55**:3203-3210.
- Haug LS, Huber S, Schlöbner M, Becher G, Thomsen C: Investigation on per- and polyfluorinated compounds in paired samples of house dust and indoor air from Norwegian homes. *Environ Sci Technol* 2011, **45**:7991-7998.
- Haug LS, Huber S, Becher G, Thomsen C: Characterisation of human exposure pathways to perfluorinated compounds-comparing exposure estimates with biomarkers of exposure. *Environ Int* 2011, **37**:687-693.
- Scheringer M, Trudel D, Horowitz L, Wormuth M, Cousins IT, Hungerbühler K: Konsumentenexposition gegenüber PFOS und PFOA. *Mitt Umweltchem Ökotox* 2007, **14**:32-36.
- Vestergren R, Cousins IT: Tracking the pathways of human exposure to perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 2009, **43**:5565-5575.
- Fromme H, Midasch O, Twardella D, Angerer J, Boehmer S, Liebl B: Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int Arch Occup Environ Health* 2007, **80**:313-319.
- UK Food Standards Agency: Fluorinated chemicals: UK dietary intakes. [http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis1106.pdf].
- European Food Safety Authority: Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA J* 2008, **6**:551-131.
- Ostertag SK, Tague BA, Humphries MM, Tittlemier SA, Chan HM: Estimated dietary exposure to fluorinated compounds from traditional foods among Inuit in Nunavut, Canada. *Chemosphere* 2009, **75**:1165-1172.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Gesundheitliche Risiken durch PFOS und PFOA in Lebensmitteln sind nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand unwahrscheinlich. *Stellungnahme Nr. 004/2009* 2008.
- Skutlarek D, Exner M, Färber H: Perfluorierte Tenside (PFT) in der aquatischen Umwelt und im Trinkwasser. *UWSF Z Umweltchem Ökotox* 2006, **18**:151-154.
- Hölzer J, Midasch O, Rauchfuss K, Kraft M, Reupert R, Angerer J, Kleeschulte P, Marschall N, Wilhelm M: Biomonitoring of perfluorinated compounds in children and adults exposed to perfluorooctanoate-contaminated drinking water. *Environ Health Perspect* 2008, **116**:651-657.
- Hölzer J, Goen T, Rauchfuss K, Kraft M, Angerer J, Kleeschulte P, Wilhelm M: One-year follow-up of perfluorinated compounds in plasma of German residents from Arnsberg formerly exposed to PFOA-contaminated drinking water. *Int J Hyg Environ Health* 2009, **212**:499-504.
- Wilhelm M, Hölzer J, Dobler L, Rauchfuss K, Midasch O, Kraft M, Angerer J, Wiesmüller 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**:142-145.
- Wilhelm M, Bergmann S, Dieter HH: Occurrence of perfluorinated compounds (PFCs) in drinking water of North Rhine-Westphalia, Germany and new approach to assess drinking water contamination by shorter-chained C4-C7 PFCs. *Int J Hyg Environ Health* 2010, **213**:224-232.
- Mak YL, Taniyasu S, Yeung LW, Lu G, Jin L, Yang Y, Lam PK, Kannan K, Yamashita N: perfluorinated compounds in tap water from China and several other countries. *Environ Sci Technol* 2009, **43**:4824-4829.
- Rumsby PC, McLaughlin CL, Hall T: Perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in drinking and environmental waters. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci* 2009, **367**:4119-4136.

Stahl et al. *Environmental Sciences Europe* 2011, **23**:38
<http://www.enveurope.com/content/23/1/38>

Page 46 of 52

25. D'Eon JC, Crozier PW, Furdul VI, Reiner EJ, Libelo EL, Mabury SA: **Perfluorinated phosphonic acids in Canadian surface waters and wastewater treatment plant effluent: discovery of a new class of perfluorinated acids.** *Environ Toxicol Chem* 2009, **28**:2101-2107.
26. Stahl T, Ackmann R, Georgii S, Wohlfarth R, Brunn H: **Perfluorierte Tenside. Verwendung, Vorkommen und Aufnahme mit Trinkwasser und Nahrung.** *Ernährung* 2007, **1**:27-35.
27. Schuetze A, Heberer T, Effkemann S, Juergensen S: **Occurrence and assessment of perfluorinated chemicals in wild fish from Northern Germany.** *Chemosphere* 2010, **78**:647-652.
28. Berger U, Glynn A, Holmström KE, Berglund M, Ankarberg EH, Törnkvist A: **Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden-analysis of edible fish from Lake Vättern and the Baltic Sea.** *Chemosphere* 2009, **76**:799-804.
29. Ericson I, Martí-Cid R, Nadal M, Van Bavel B, Lindström G, Domingo JL: **Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market.** *J Agric Food Chem* 2008, **56**:1787-1794.
30. European Food Safety Authority: **Results of the monitoring of perfluoroalkylated substances in food in the period 2000-2009.** *EFSA J* 2011, **9**:2016.
31. Martin JW, Mabury SA, O'Brien PJ: **Metabolic products and pathways of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes.** *Chem Biol Interact* 2005, **155**:165-180.
32. Kudo N, Iwase Y, Okayachi H, Yamakawa Y, Kawashima Y: **Induction of hepatic peroxisome proliferation by 8-2 telomer alcohol feeding in mice: Formation of perfluorooctanoic acid in the liver.** *Toxicol Sci* 2005, **86**:231-238.
33. Bundesinstitut für Risikobewertung: **Perfluorchemikalien in Papieren und Kartons für Lebensmittelverpackungen.** *Gesundheitliche Bewertung Nr. 049/2005* 2005.
34. Powley CR, Michalczyk MJ, Kaiser MA, Buxton W: **Determination of perfluorooctanoic acid (PFOA) extractable from the surface of commercial cookware under simulated cooking conditions by LC/MS/MS.** *Analyst* 2005, **130**:1299-1302.
35. Begley TH, White K, Honigfort P, Twaroski ML, Neches R, Walker RA: **Perfluorochemicals: potential sources of and migration from food packing.** *Food Addit Contam* 2005, **22**:1023-1031.
36. Sinclair E, Kim SK, Akinleye HB, Kannan K: **Quantitation of gas-phase perfluoroalkyl surfactants and fluorotelomer alcohols released from nonstick cookware and microwave popcorn bags.** *Environ Sci Technol* 2007, **41**:1180-1185.
37. Tittlemier SA, Pepper K, Edwards L: **Concentrations of perfluorooctanesulfonamides in Canadian total diet study composite food samples collected between 1992 and 2004.** *J Agric Food Chem* 2006, **54**:8385-8389.
38. Fromme H, Tittlemier SA, Völkel W, Wilhelm M, Twardella D: **Perfluorinated compounds-exposure assessment for the general population in western countries.** *Int J Hyg Environ Health* 2009, **212**:239-270.
39. Ericson J, Jogsten I, Perelló G, Lieberia X, Bigas E, Martí-Cid R, Kärman A, Domingo JL: **Exposure to perfluorinated compounds in Catalonia, Spain, through consumption of various raw and cooked foodstuffs, including packaged food.** *Food Chem Toxicol* 2009, **47**:1577-1583.
40. D'Eon JC, Simpson AJ, Kumar R, Baer AJ, Mabury SA: **Determining the molecular interactions of perfluorinated carboxylic acids with human sera and isolated human serum albumin using nuclear magnetic resonance spectroscopy.** *Environ Toxicol Chem* 2010, **29**:1678-1688.
41. Renner R: **PFOA in people.** *Environ Sci Technol* 2007, **41**:4497-4500.
42. Begley TH, Hsu W, Noonan G, Diachenko G: **Food migration of fluorochemical paper additives from food-contact paper into foods and food simulants.** *Addit Contam* 2008, **25**:384-390.
43. Lv G, Wang L, Liu S, Li S: **Determination of perfluorinated compounds in packaging materials and textiles using pressurized liquid extraction with gas chromatography-mass spectrometry.** *Analytical Sciences* 2009, **25**:425-429.
44. Goosey E, Harard S: **Perfluoroalkyl compounds in dust from Asian, Australian, European, and North American homes and UK cars, classrooms, and offices.** *Environ Int* 2011, **37**:86-92.
45. Langer V, Dreyer A, Ebinghaus R: **Polyfluorinated compounds in residential and nonresidential indoor air.** *Environ Sci Technol* 2011, **44**:8075-8081.
46. Huber S, Haug LS, Schlabach M: **Per- and polyfluorinated compounds in house dust and indoor air from northern Norway-a pilot study.** *Chemosphere* 2011, **84**:1686-1693.
47. Washburn ST, Bingman TS, Braithwaite SK, Buck RC, Buxton LW, Clewell HJ, Haroun LA, Kester JE, Rickard RW, Shipp AM: **Exposure assessment and risk characterization for perfluorooctanoate in selected consumer articles.** *Environ Sci Technol* 2005, **39**:3904-3910.
48. Moriwaki H, Takata Y, Arakawa R: **Concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in vacuum cleaner dust collected in Japanese homes.** *J Environ Monit* 2003, **5**:753-757.
49. Kubwabo C, Stewart B, Zhu J, Marro L: **Occurrence of perfluorosulfonates and other perfluorochemicals in dust from selected homes in the city of Ottawa, Canada.** *J Environ Monit* 2005, **7**:1074-1078.
50. Kato K, Calafat AM, Needham LL: **Polyfluoroalkyl chemicals in house dust.** *Environ Res* 2009, **109**:518-523.
51. Fromme H, Schlummer M, Möller A, Gruber L, Wolz G, Ungewiss J, Böhrer S, Dekant W, Mayer R, Liebl B, Twardella D: **Exposure of an adult population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data.** *Environ Sci Technol* 2007, **41**:7928-7933.
52. Zhang T, Wu Q, Sun HW, Zhang XZ, Yun SH, Kannan K: **Perfluorinated compounds in whole blood samples from infants, children, and adults in China.** *Environ Sci Technol* 2010, **44**:4341-4347.
53. Midasch O, Drexler H, Hart N, Beckmann MW, Angerer J: **Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study.** *Int Arch Occup Environ Health* 2007, **80**:643-648.
54. Inoue K, Okada F, Ito R, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Uno A, Saijo Y, Sata F, Yoshimura Y, Kishi R, Nakazara H: **Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human blood and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy.** *Environ Health Perspect* 2004, **112**:1204-1207.
55. Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, Goldman LR: **Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth.** *Environ Health Perspect* 2007, **115**:1670-1676.
56. Monroy R, Morrison K, Teo K, Atkinson S, Kubwabo C, Stewart B, Foster WG: **Serum levels of perfluoroalkyl compounds in human maternal and umbilical cord blood samples.** *Environ Res* 2008, **108**:56-62.
57. Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J: **Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort.** *Environ Health Perspect* 2007, **115**:1677-1682.
58. Hinderliter PM, Mylchreest E, Gannon SA, Butenhoff JL, Kennedy GL: **Perfluorooctane: placental and lactational transport pharmacokinetics in rats.** *Toxicology* 2005, **211**:139-148.
59. Kärman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, Lignell S, Lindström G: **Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden.** *Environ Health Perspect* 2007, **115**:226-230.
60. So MK, Yamashita N, Taniyasu S, Jiang Q, Giesy JP, Chen K, Lam PKS: **Health risks in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan, China.** *Environ Sci Technol* 2006, **40**:2924-2929.
61. Völkel W, Genzel-Broviczny O, Demmelmair H, Gebauer C, Koletzko B, Twardella D, Raab U, Fromme H: **Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in human breast milk: results of a pilot study.** *Int J Hyg Environ Health* 2007, **211**:440-446.
62. Liu J, Li J, Zhao Y, Wang Y, Zhang L, Wu Y: **The occurrence of perfluorinated alkyl compounds in human milk from different regions of China.** *Environ Int* 2010, **36**:433-438.
63. Tao L, Ma J, Kunisue T, Libelo EL, Tanabe S, Kannan K: **Perfluorinated compounds in human breast milk from several Asian countries, and in infant formula and dairy milk from the United States.** *Environ Sci Technol* 2008, **42**:8597-8602.
64. Llorca M, Farré M, Picó Y, Teijón ML, Alvarez JG, Barceló D: **Infant exposure of perfluorinated compounds: levels in breast milk and commercial baby food.** *Environ Int* 2010, **36**:584-592.
65. Jones PD, Hu W, de Coen W, Newsted JL, Giesy JP: **Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins.** *Environ Toxicol Chem* 2003, **22**:2639-2649.
66. Taves DR: **Electrophoretic mobility of serum fluoride.** *Nature* 1968, **119**:582-583.

67. Shen YW, Taves DR: Fluoride concentrations in the human placenta and maternal and cord blood. *An J Obstet Gynecol* 1974, **119**:205-207.
68. Olsen GW, Burris JM, Mandel JH, Zobel LR: Serum perfluorooctane and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees. *J Occup Environ Med* 1999, **41**:799-806.
69. Olsen GW, Hansen KJ, Stevenson LA, Burris JM, Mandel JH: Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other perfluorochemicals. *Environ Sci Technol* 2003, **37**:888-891.
70. Ehresman DJ, Chang S, Bjork JA, Hart JA, Lieder PH, Wallace KB, Butenhoff JL: Increased acyl CoA oxidase activity in rats after five consecutive daily doses of perfluorobutanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanesulfonate. *Toxicologist* 2007, **96**:179.
71. Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, Mohd MA, Olivero J, Van Wouwe N, Yang JH, Aldous KM: Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ Sci Technol* 2004, **38**:4489-4495.
72. Kärrman A, Langlois I, van Bavel B, Lindström G, Oehme M: Identification and pattern of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in human serum and plasma. *Environ Int* 2007, **33**:782-788.
73. Ericson I, Gomez M, Nadal M, van Bavel B, Lindstrom G, Domingo JL: Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environ Int* 2007, **33**:616-623.
74. Calafat AM, Kuklenyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Tully JS, Needham LL: Serum concentrations of 11 polyfluoroalkyl compounds in the U.S. population: data from the national health and nutrition examination survey (NHANES) 1999-2000. *Environ Sci Technol* 2007, **41**:2237-2242.
75. Wilhelm M, Angerer J, Fromme H, Hölzer J: Contribution to the evaluation of reference values for PFOA and PFOS in plasma of children and adults from Germany. *Int J Hyg Environ Health* 2009, **212**:56-60.
76. Midasch O, Schettgen T, Angerer J: Pilot study on the perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate exposure of the German general population. *Int J Hyg Environ Health* 2006, **209**:489-496.
77. Fromme H, Albrecht M, Angerer J, Drexler H, Gruber L, Schlummer M, Parlar H, Korner W, Wanner A, Heitmann D, Roscher E, Bolte G: Integrated Exposure Assessment Survey (INES): exposure to persistent and bioaccumulative chemicals in Bavaria, Germany. *Int J Hyg Environ Health* 2007, **210**:345-349.
78. Kärrman A, van Bavel B, Jarnberg U, Hardell L, Lindstrom G: Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere* 2006, **64**:1582-1591.
79. Bischoff HN, Macmanus-Spencer LA, Luthy RG: Noncovalent interactions of long-chain perfluoroalkyl acids with serum albumin. *Environ Sci Technol* 2010, **44**:5263-5269.
80. Chen YM, Guo LH: Fluorescence study on site-specific binding of perfluoroalkyl acids to human serum albumin. *Arch Toxicol* 2009, **83**:255-261.
81. Calafat AM, Needham LL, Kuklenyik Z, Reidy JA, Tully JS, Aguilar-Villalobos M, Naeher LP: Perfluorinated chemicals in selected residents of the American continent. *Chemosphere* 2006, **63**:490-496.
82. Harada K, Saito N, Inoue K, Yoshinaga T, Watanabe T, Sasaki S, Kamiyama S, Koizumi A: The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years. *J Occup Health* 2004, **46**:141-147.
83. Kärrman A, Mueller JF, van Bavel B, Harden F, Toms LM, Lindstrom G: Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum, collected 2002-2003, in relation to age, gender, and region. *Environ Sci Technol* 2006, **40**:3742-3748.
84. Rylander C, Brustad M, Falk H, Sandanger TM: Dietary predictors and plasma concentrations of perfluorinated compounds in a coastal population from Northern Norway. *J Environ Public Health* 2010.
85. Olsen GW, Huang H-Y, Helzlsouer KJ, Hansen KJ, Butenhoff JL, Mandel JH: Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ Health Perspect* 2005, **113**:539-545.
86. Liu C, Deng J, Yu L, Ramesh M, Zhou B: Endocrine disruption and reproductive impairment in zebrafish by exposure to 8:2 fluorotelomer alcohol. *Aquat Toxicol* 2010, **96**:70-76.
87. Liu W, Li X, Xu L, Liu L, Jin Y, Sato I, Tsuda S: Influence of gestation, regular bleeding and intermittent exposure on blood perfluorooctane sulfonate levels in mice: potential factors inducing sex difference and affecting exposure evaluation. *J Toxicol Sci* 2010, **35**:309-316.
88. Rylander C, Sandanger TM, Frøyland L, Lund E: Dietary patterns and plasma concentrations of perfluorinated compounds in 315 Norwegian women: the NOWAC postgenome study. *Environ Sci Technol* 2010, **44**:5225-5232.
89. Hanssen L, Röllin H, Odland JØ, Moe MK, Sandanger TM: Perfluorinated compounds in maternal serum and cord blood from selected areas of South Africa: results of a pilot study. *J Environ Monit* 2010, **12**:1355-1361.
90. Hemat H, Wilhelm M, Völkel 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**:3493-3495.
91. Calafat A, Kuklenyik Z, Reidy JA, Tully JS, Needham LL: Perfluorochemicals in residents of the United States in 2001 through 2002. "Fluoros" 9th International Symposium on Fluorinated Alkyl Organics in the Environment: August 19-20 2005; Toronto Toronto; University of Toronto; 2005.
92. Holmström KE, Berglund M, Järnberg U: Exposure to perfluorinated acids in 108 Swedish women in relation to methylmercury and fish consumption. Fluoros 9th International Symposium on Fluorinated Alkyl Organics in the Environment August 19-20 2005; Toronto Toronto; University of Toronto; 2005.
93. Falandysz J, Taniyasu S, Gulkowska A, Yamada N, Schulte-Oehlmann U: Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic coast? *Environ Sci Technol* 2006, **40**:748-751.
94. Jin Y, Saito N, Harada KH, Inoue K, Koizumi A: Historical trends in human serum levels of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in Shenyang, China. *Tohoku J Exp Med* 2007, **212**:63-70.
95. Calafat AM, Wong L-Y, Kuklenyik Z, Reidy JA, Needham LL: Polyfluoroalkyl Chemicals in the U.S. Population: Data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004 and comparisons with NHANES 1999-2000. *Environ Health Perspect* 2007, **115**:1596-1602.
96. De Silva AO, Mabury SA: Isomer distribution of perfluorocarboxylates in human blood: potential correlation to source. *Environ Sci Technol* 2006, **40**:2903-2909.
97. Gibson SJ, Johnson JD: Absorption of FC-143-14C in Rats After a Single Oral Dose. Riker Laboratories, Inc., Subsidiary of 3M, St. Paul MN, U.S. EPA Public Docket AR-226-0455, Washington, DC; 1979.
98. Johnson JD, Gibson SJ, Ober RF: Absorption of FC-95-14C in rats after a single oral dose Project No. 890310200. Riker Laboratories, Inc., Subsidiary of 3 M, St. Paul MN. (U.S. EPA Docket No. 8(e)HQ-1180-00374); 1979.
99. Kennedy GL Jr: Dermal toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985, **81**:348-355.
100. Kennedy GL Jr, Hall GT, Brittelli MR, Barnes JR, Chen HC: Inhalation toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Food Chem Toxicol* 1986, **24**:1325-1329.
101. Kudo N, Kawashima Y: Toxicity and toxicokinetics of perfluorooctanoic acid in humans and animals. *J Toxicol Sci* 2003, **28**:49-57.
102. Fasano WJ, Carpenter SC, Gannon SA, Snow TA, Stadler JC, Kennedy GL, Buck RC, Korzeniowski SH, Hinderliter PM, Kemper RA: Absorption, distribution, metabolism and elimination of 8-2 fluorotelomer alcohol in the rat. *Toxicol Sci* 2006, **91**:341-355.
103. Han X, Snow TA, Kemper RA, Jepson GW: Binding of perfluorooctanoic acid to rat and human plasma proteins. *Chem Res Toxicol* 2003, **16**:775-781.
104. Lübker DJ, Hansen KJ, Bass NM, Butenhoff JL, Seacat AM: Interactions of fluorochemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology* 2002, **176**:175-185.
105. Ylänen M, Auriola S: Tissue distribution and elimination of perfluorodecanoic acid in the rat after single intraperitoneal administration. *Pharmacol Toxicol* 1990, **66**:45-48.
106. Qin P, Liu R, Pan X, Fang X, Mou Y: Impact of carbon chain length on binding of perfluoroalkyl acids to bovine serum albumin determined by spectroscopic methods. *J Agric Food Chem* 2010, **58**:5561-5567.
107. Austin ME, Kasturi BS, Barber M, Kannan K, Mohan-Kumar PS, MohanKumar SMJ: Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats. *Environ Health Perspect* 2003, **111**:1485-1489.
108. Seacat AM, Thomford PJ, Hansen KJ, Clemen LA, Eldridge SR, Elcombe CR, Butenhoff JL: Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctanesulfonate in rats. *Toxicology* 2003, **183**:117-131.
109. Yoo H, Guruge KS, Yamanaka N, Sato C, Mikami O, Miyazaki S, Yamashita N, Giesy JP: Depuration kinetics and tissue disposition of PFOA and PFOS in

- white leghorn chickens (*Gallus gallus*) administered by subcutaneous implantation. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009, **72**:26-36.
110. Han X, Yang C-H, Snajdr SI, Nabb DL, Mingoia RT: Uptake of perfluorooctanoate in freshly isolated hepatocytes from male and female rats. *Toxicol Lett* 2008, **181**:81-86.
 111. Kudo N, Sakai A, Mitsumoto A, Hibino Y, Tsuda T, Kawashima Y: Tissue distribution and hepatic subcellular distribution of perfluorooctanoic acid at low dose are different from those at high dose in rats. *Biol Pharm Bull* 2007, **30**:1535-1540.
 112. Tan YM, Clewell HJ III, Andersen ME: Time dependencies in perfluorooctylacids disposition in rat and monkeys: a kinetic analysis. *Toxicol Lett* 2008, **177**:38-47.
 113. Liu L, Jin YH, Wang L, Yu HY, Liu W, Yu QL, Wang K, Liu B, Wang J: Effects of perfluorooctane sulfonate on learning and memory of rat pups. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2009, **43**:622-627.
 114. Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Barbee BD, Richards JH, Butenhoff JL, Stevenson LA, Lau C: Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse I. Maternal and prenatal evaluations. *Toxicol Sci* 2003, **74**:369-381.
 115. Lau C, Anitole K, Hodes C, Lai D, Pfahles-Hutchens A, Seed J: Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol Sci* 2007, **99**:366-394.
 116. Peng H, Wei Q, Wan Y, Giesy JP, Li L, Hu J: Tissue distribution and maternal transfer of poly- and perfluorinated compounds in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*): implications for reproductive risk. *Environ Sci Technol* 2010, **44**:1868-1874.
 117. Henderson WM, Smith MA: Perfluorooctanoic acid and perfluorononanoic acid in fetal and neonatal mice following in utero exposure to 8-2 fluorotelomer alcohol. *Toxicol Sci* 2007, **95**:452-461.
 118. Butt CM, Muir DC, Mabury SA: Elucidating the pathways of poly- and perfluorinated Acid formation in rainbow trout. *Environ Sci Technol* 2010, **44**:4973-4980.
 119. Martin JW, Chan K, Mabury SA, O'Brien PJ: Bioactivation of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact* 2009, **177**:196-203.
 120. Kudo N, Katakura M, Sato Y, Kawashima Y: Sex hormone-regulated renal transport of perfluorooctanoic acid. *Chem Biol Interact* 2002, **139**:301-316.
 121. Van den Heuvel JP, Kuslikis BI, van Rafelghem MJ, Peterson RE: Tissue distribution, metabolism and elimination of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *J Biochem Toxicol* 1991, **6**:83-92.
 122. Weaver YM, Ehresman DJ, Butenhoff JL, Hagenbuch B: Roles of rat renal organic anion transporters in transporting perfluorinated carboxylates with different chain lengths. *Toxicol Sci* 2010, **113**:305-314.
 123. Johnson JD, Gibson SJ, Ober RE: Cholestyramine-enhanced fecal elimination of carbon-14 in rats after administration of ammonium [14C] perfluorooctanoate or potassium [14C]perfluorooctansulfonate. *Fundam Appl Toxicol* 1984, **4**:972-976.
 124. Cui L, Liao CY, Zhou QF, Xia TM, Yun ZJ, Jiang GB: Excretion of PFOA and PFOS in male rats during a subchronic exposure. *Arch Environ Contam Toxicol* 2010, **58**:205-213.
 125. Butenhoff JL, Kennedy GL, Frame SR, O'Connor JC, York RG: The reproductive toxicology and elimination of perfluorooctanoate (APFO) in the rat. *Toxicology* 2004, **196**:95-116.
 126. Harada K, Inoue K, Morikawa A, Yoshinaga T, Saito N, Koizumi A: Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ Res* 2005, **99**:253-261.
 127. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (COT): COT Statement on the Tolerable Daily Intake for Perfluorooctane Sulfonate. *COT Statement* 2006/9 2006.
 128. Seacat AM, Thomford PJ, Hansen KJ, Olsen GW, Case MT, Butenhoff JL: Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci* 2002, **68**:249-264.
 129. Benskin JP, De Silva AO, Martin LJ, Arsenaault G, McCrindle R, Riddell N, Mabury SA, Martin JW: Disposition of perfluorinated acid isomers in Sprague-Dawley rats; part 1: single dose. *Environ Toxicol Chem* 2008, **28**:542-554.
 130. De Silva AO, Benskin JP, Martin LJ, Arsenaault G, McCrindle R, Riddell N, Martin JW, Mabury SA: Disposition of perfluorinated acid isomers in sprague-dawley rats; part 2: subchronic dose. *Environ Tox Chem* 2008, **28**:555-567.
 131. Olsen GW, Butenhoff JL, Zobel LR: Perfluoroalkyl chemicals and human fetal development: an epidemiologic review with clinical and toxicological perspectives. *Reprod Toxicol* 2009, **27**:212-230.
 132. Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, Zobel LR: Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 2007, **115**:1298-1305.
 133. Hundley SG, Sarraf AM, Kennedy GL: Absorption, distribution and excretion of ammonium perfluorooctanoate (APFO) after oral administration to various species. *Drug Chem Toxicol* 2006, **29**:137-145.
 134. Organisation for Economic Cooperation and Development: Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts. November 21, ENV/JM/RD 17/Final 2002.
 135. Glaza S: Acute Dermal Toxicity Study of T-6342 in Rabbits. Coming Hazelton Inc., Madison WI., 3 M Company, St Paul. US EPA AR226-0427 1995.
 136. Biesemeier JA, Harris DL: Eye and Skin Irritation Report on Sample T-1117. Report. Project No. 4102871, WARF Institute Inc 1974.
 137. Ji K, Kim Y, Oh S, Ahn B, Jo H, Choi K: Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*) and fish (*Oryzias latipes*). *Environ Toxicol Chem* 2008, **27**:2159-2168.
 138. Christopher B, Martin JW: 28-Day Oral Toxicity Study with FC-143 in Albino Mice 8532-10655, T-1742CoC. Industrial Bio-Test Laboratories, Inc; 1977.
 139. Metrick M, Marias AJ: 28-Day oral toxicity study with FC-143 in albino rats 8532-10654, T-1742CoC. Industrial Bio-Test Laboratories, Inc; 1977.
 140. So MK, Miyake Y, Yeung WY, Ho YM, Taniyasu S, Rostkowski P, Yamashita N, Zhou BS, Shi XJ, Wang JX, Giesy JP, Yu H, Lam PK: Perfluorinated compounds in the Pearl River and Yangtze River of China. *Chemosphere* 2007, **68**:2085-2095.
 141. Perkins RG, Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Palazzolo MJ: 13-week dietary toxicity study of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in male rats. *Drug Chem Toxicol* 2004, **27**:361-378.
 142. Loveless SE, Finlay C, Everds NE, Frame SR, Gillies PJ, O'Connor JC, Powley CR, Kennedy GL: Comparative responses of rats and mice exposed to linear/branched, linear, or branched ammonium perfluorooctanoate (APFO). *Toxicology* 2006, **220**:203-217.
 143. Curran I, Hierlihy SL, Liston V, Pantazopoulos P, Nunnikhoven A, Tittlemier S, Barker M, Trick K, Bondy G: Altered fatty acid homeostasis and related toxicologic sequelae in rats exposed to dietary potassium perfluorooctanesulfonate (PFOS). *J Toxicol Environ Health A* 2008, **71**:1526-1541.
 144. Cui L, Zhou QF, Liao CY, Fu JJ, Jiang GB: Studies on the toxicological effects of PFOA and PFOS on rats using histological observation and chemical analysis. *Arch Environ Contam Toxicol* 2009, **56**:338-349.
 145. Goldenthal EI, Jessup DC, Geil RG, Mehning JS: Ninety-Day Subacute Rhesus Monkey Toxicity Study 137-092. International Research and Development Corporation; 1978.
 146. Butenhoff J, Costa G, Elcombe C, Farrar D, Hansen K, Iwai H, Jung R, Kennedy G Jr, Lieder P, Olsen G, Thomford P: Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicol Sci* 2002, **69**:244-257.
 147. Yang JH: Perfluorooctanoic acid induces peroxisomal fatty acid oxidation and cytokine expression in the liver of male Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 2010, **81**:548-552.
 148. Fang X, Wei Y, Liu Y, Wang J, Dai J: The identification of apolipoprotein genes in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) and their expression following perfluorooctanoic acid exposure. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2010, **151**:152-159.
 149. Thomford PJ: 104-week dietary chronic toxicity and carcinogenicity study with perfluorooctane sulfonic acid potassium salt (PFOS; T-6295) in rats Covance Laboratories Inc; 2002, 6329-183.
 150. Sibinski LJ: Final report of a two-year oral (diet) toxicity and carcinogenicity study of fluorochemical FC-143 (perfluorooctane ammonium carboxylate) in rats 1987, Vol. 1-4, 3 M Company/RIKER, Exp. No. 0281CR0012; 8 EHQ-1087-0394, October 16.
 151. Mann PC, Frame SR: FC-143: Two-year oral toxicity-oncogenicity study in rats: Peer review of ovaries 2004, DuPont Project ID 15621, June 25, 2004. US. EPA AR226.
 152. Hardisty JF, Willson GA, Brown WR, McConnell EE, Frame SR, Gaylor DW, Kennedy GL, Butenhoff JL: Pathology Working Group review and

- evaluation of proliferative lesions of mammary gland tissues in female rats fed ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the diet for 2 years. *Drug Chem Toxicol* 2010, **33**:131-137.
153. Biegel LB, Hurtt ME, Frame SR, O'Connor JC, Cook JC: Mechanisms of extrahepatic tumour induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicol Sci* 2001, **60**:44-55.
 154. Frame SR, McConnell EE: Review of the proliferative lesions of the exocrine pancreas in two chronic studies in rats with ammonium perfluorooctanoate. *DuPont-13788* 2003.
 155. Abdellatif AG, Preat V, Taper HS, Roberfroid M: The modulation of rat liver carcinogenesis by perfluorooctanoic acid, a peroxisome proliferator. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991, **111**:530-537.
 156. Nilsson R, Beije B, Preat V, Erixon K, Ramel C: On the mechanism of the hepatocarcinogenicity of peroxisome proliferators. *Chem-Biol Interact* 1991, **78**:235-250.
 157. Murl H: In *Mutagenicity test on T-6564 measuring chromosomal aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells with a confirmatory assay with multiple harvests*. Edited by: Vienna VA. Corning Hazleton Inc; 1996. Study Number: 17750-0-437CO, September 16, 1996. US EPA. AR226-0433.
 158. Yao X, Zhong L: Genotoxic risk and oxidative DNA damage in HepG2 cells exposed to perfluorooctanoic acid. *Mutat Res* 2005, **587**:38-44.
 159. Takagi A, Umemura T, Hasegawa R, Kurokawa Y: Short-term exposure to the peroxisome proliferators perfluorooctanoic acid and perfluorodecanoic acid causes significant increase of 8-hydroxydeoxyguanosine in liver DNA of rats. *Cancer Lett* 1991, **57**:55-60.
 160. Lau C, Butenhoff JL, Rogers JM: The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004, **198**:231-241.
 161. Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB, Strynar MJ: Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol Sci* 2006, **90**:510-518.
 162. Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, Butenhoff JL, Stevenson LA: Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation. *Toxicol Sci* 2003, **74**:382-392.
 163. Lübker DJ, Case MT, York RG, Moore JA, Hansen KJ, Butenhoff JL: Two-generation reproduction and cross-foster studies of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats. *Toxicology* 2005, **215**:126-148.
 164. Christian MS, Hoberman AM, York RG: In *Combined oral (gavage) fertility, developmental and perinatal/postnatal reproduction toxicity study of N-EtFOSE in rats*. Edited by: Horsham PA. Argus Research Laboratories, Inc; 1999. US EPA Administrative Record, AR-226-0552.
 165. Butenhoff JL, Kennedy GL, Hinderliter PM, Lieder PH, Jung R, Hansen KJ, Gorman GS, Noker PE, Thomford PJ: Pharmacokinetics of perfluorooctanoate in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci* 2004, **82**:394-406.
 166. York RG, Kennedy GL Jr, Olsen GW, Butenhoff JL: Male reproductive system parameters in a two-generation reproduction study of ammonium perfluorooctanoate in rats and human relevance. *Toxicology* 2010, **271**:64-72.
 167. Grasty RC, Wolf DC, Grey BE, Lau CS, Rogers JM: Prenatal window of susceptibility to perfluorooctane sulfonate-induced neonatal mortality in the Sprague-Dawley rat. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2003, **68**:465-471.
 168. Grasty RC, Bjork JA, Wallace KB, Lau CS, Rogers JM: Effects of prenatal perfluorooctane sulfo-nate (PFOS) exposure on lung maturation in the perinatal rat. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2005, **74**:405-416.
 169. Wolf CJ, Fenton SE, Schmid JE, Calafat AM, Kuklenyik Z, Bryant XA, Thibodeaux J, Das KP, White SS, Lau CS, Abbott BD: Developmental toxicity of per-fluorooctanoic acid in the CD-1 mouse after cross-foster and restricted gestational exposures. *Toxicol Sci* 2007, **95**:462-473.
 170. Lübker DJ, York RG, Hansen KJ, Moore JA, Butenhoff JL: Neonatal mortality from in utero exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in Sprague-Dawley rats: dose-response, and biochemical and pharmacokinetic parameters. *Toxicology* 2005, **215**:149-169.
 171. Yu WG, Liu W, Jin YH, Liu XH, Wang FQ, Liu L, Nakayama SF: Prenatal and postnatal impact of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on rat development: a cross-foster study on chemical burden and thyroid hormone system. *Environ Sci Technol* 2009, **43**:8416-8422.
 172. Abbott BD, Wolf CJ, Schmid JE, Das KP, Zehr RD, Helfant L, Nakayama S, Lindstrom AB, Strynar MJ, Lau C: Perfluorooctanoic acid induced developmental toxicity in the mouse is dependent on expression of peroxisome proliferator activated receptor- α . *Toxicol Sci* 2007, **98**:571-581.
 173. Abbott BD: Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors α (PPAR α), β (PPAR β) and γ (PPAR γ) in rodent and human development. *Reprod Toxicol* 2009, **27**:246-257.
 174. Yanai J, Dotan S, Goz R, Pinkas A, Seidler FJ, Slotkin TA, Zimmerman F: Exposure of developing chicks to perfluorooctanoic acid induces defects in pre-hatch and early post-hatch development. *J Toxicol Environ Health A* 2008, **71**:131-133.
 175. Peden-Adams MM, Stuckey JE, Gaworecki KM, Berger-Ritchie J, Bryant K, Jodice PG, Scott TR, Ferrario JB, Guan B, Vigo C, Boone JS, McGuinn WD, DeWitt JC, Keil DE: Developmental toxicity in white leghorn chickens following in ovo exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Reprod Toxicol* 2009, **27**:307-318.
 176. Molina ED, Balander R, Fitzgerald SD, Giesy JP, Kannan K, Mitchell R, Bursian SJ: Effects of air cell injection of perfluorooctane sulfonate before incubation on development of the white Leghorn chicken (*Gallus domesticus*) embryo. *Environ Toxicol Chem* 2006, **25**:227-232.
 177. Newsted JL, Coady KK, Beach SA, Butenhoff JL, Gallagher S, Giesy JP: Effects of perfluorooctane sulfonate on mallard and northern bobwhite quail exposed chronically via the diet. *Environ Toxicol Pharmacol* 2007, **23**:1-9.
 178. Ankley GT, Kuehl DW, Kahl MD, Jensen KM, Buttenworth BC, Nichols JW: Partial life-cycle toxicity and bioconcentration modeling of perfluorooctanesulfonate in the Northern leopard frog (*Rana pipiens*). *Environ Toxicol Chem* 2004, **23**:2745-2755.
 179. Ankley GT, Kuehl DW, Kahl MD, Jensen KM, Linnam A, Leino RL, Villeneuve DA: Reproductive and developmental toxicity and bioconcentration of perfluorooctanesulfonate in a partial lifecycle test with the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ Toxicol Chem* 2005, **24**:2316-2324.
 180. Das KP, Grey BE, Zehr RD, Wood CR, Butenhoff JL, Chang SC, Ehresman DJ, Tan YM, Lau C: Effects of perfluorobutylate exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol Sci* 2008, **105**:173-181.
 181. York RG: Oral (gavage) combined repeated dose toxicity study of T-7706 with the reproduction/developmental toxicity screening test 2003, 3 M Sponsor Study Number T-7706.1. US EPA Administrative Record, AR-226-1523.
 182. Harris MW, Birnbaum LS: Developmental toxicity of perfluorodecanoic acid in C57BL/6N mice. *Fundam Appl Toxicol* 1989, **12**:442-448.
 183. Feng Y, Shi Z, Fang X, Xu M, Dai J: Perfluorononanoic acid induces apoptosis involving the Fas death receptor signaling pathway in rat testis. *Toxicol Lett* 2009, **190**:224-230.
 184. Harada KH, Ishii TM, Takatsuka K, Koizumi A, Ohmori H: Effects of perfluorooctane sulfonate on action potentials and currents in cultured rat cerebellar Purkinje cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006, **351**:240-245.
 185. Kovarova J, Svobodova Z: Perfluorinated compounds: occurrence and risk profile. *Neuro Endocrinol Lett* 2008, **29**:599-608.
 186. Slotkin TA, MacKillop EA, Melnick RL, Thayer KA, Seidler FJ: Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro. *Environ Health Perspect* 2008, **116**:716-722.
 187. Liao C, Wang T, Cui L, Zhou Q, Duan S, Jiang G: Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environ Sci Technol* 2009, **43**:2099-2104.
 188. Johansson N, Fredriksson A, Eriksson P: Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *Neurotoxicology* 2008, **29**:160-169.
 189. Johansson N, Eriksson P, Viberg H: Neonatal exposure to PFOS and PFOA in mice results in changes in proteins which are important for neuronal growth and synaptogenesis in the developing brain. *Toxicol Sci* 2009, **108**:412-418.
 190. Löffler G, Petrides P, Heinrich P: *Biochemie & Pathobiochemie. 8. Auflage* Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007.
 191. Sato I, Kawamoto K, Nishikawa Y, Tsuda S, Yoshida M, Yaegashi K, Saito N, Liu W, Jin Y: Neurotoxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in rats and mice after single oral exposure. *J Toxicol Sci* 2009, **34**:569-574.
 192. Liu L, Liu W, Song J, Yu H, Jin Y, Oami K, Sato I, Saito N, Tsuda S: A comparative study on oxidative damage and distributions of

- perfluorooctane sulfonate (PFOS) in mice at different postnatal developmental stages. *Toxicol Sci* 2009, **34**:245-254.
193. Liu X, Liu W, Jin Y, Yu W, Wang F, Liu L: Effect of gestational and lactational exposure to perfluorooctanesulfonate on calcium-dependent signaling molecules gene expression in rats' hippocampus. *Arch Toxicol* 2010, **84**:71-79.
 194. Pinkas A, Slotkin TA, Brick-Turin Y, Van der Zee EA, Yanai J: Neurobehavioral teratogenicity of perfluorinated alkyls in an avian model. *Neurotoxicol Teratol* 2010, **32**:182-186.
 195. Langley AE, Pilcher GD: Thyroid, bradycardic and hypothermic effects of perfluoro-n-decanoic acid in rats. *J Toxicol Environ Health* 1985, **15**:485-491.
 196. Gutshall DM, Pilcher GD, Langley AE: Effect of thyroxine supplementation on the response to perfluoro-n-decanoic acid (PFDA) in rats. *J Toxicol Environ Health* 1988, **24**:491-498.
 197. Weiss JM, Andersson PL, Lamoree MH, Leonards PE, van Leeuwen SP, Hamers T: Competitive binding of poly- and perfluorinated compounds to the thyroid hormone transport protein transthyretin. *Toxicol Sci* 2009, **109**:206-216.
 198. Chang SC, Thibodeaux JR, Eastvold ML, Ehresman DJ, Bjork JA, Froehlich JW, Lau C, Singh RJ, Wallace KB, Butenhoff JL: Thyroid hormone status and pituitary function in adult rats given oral doses of perfluorooctanesulfonate (PFOS). *Toxicology* 2008, **243**:330-339.
 199. Benninghoff AD, Field JA, Williams DE: Assessment of the estrogen activity of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other structurally diverse perfluorinated chemicals in rainbow trout. *Toxicologist CD* 2007, **96**:110.
 200. Wei Y, Dai J, Liu M, Wang J, Xu M, Zha J, Wang Z: Estrogen-like properties of perfluorooctanoic acid as revealed by expressing hepatic estrogen-responsive genes in rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Environ Toxicol Chem* 2006, **25**:2440-2447.
 201. Zhao B, Chu Y, Hardy DO, Li XK, Ge RS: Inhibition of 3 β - and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activities in rat Leydig cells by perfluorooctane acid. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010, **118**:13-17.
 202. Zhao Y, Tan YS, Haslam SZ, Yang C: Perfluorooctanoic acid effects on steroid hormone and growth factor levels mediate stimulation of peripubertal mammary gland development in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci* 2010, **115**:214-224.
 203. Maras M, Vanparrys C, Muijle F, Robbens J, Berger U, Barber JL, Blust R, De Coen W: Estrogen-like properties of fluorotelomer alcohols as revealed by MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect* 2006, **114**:100-105.
 204. Shi Z, Zhang H, Liu Y, Xu M, Dai J: Alterations in gene expression and testosterone synthesis in the testes of male rats exposed to perfluorododecanoic acid. *Toxicol Sci* 2007, **98**:206-215.
 205. Shi Z, Ding L, Zhang H, Feng Y, Xu M, Dai J: Chronic exposure to perfluorododecanoic acid disrupts testicular steroidogenesis and the expression of related genes in male rats. *Toxicol Lett* 2009, **188**:192-200.
 206. Yang Q, Xie Y, Depierre JW: Effects of peroxisome proliferators on the thymus and spleen of mice. *Clin Exp Immunol* 2000, **122**:219-226.
 207. Yang Q, Abedi-Valugerdi M, Xie Y, Zhao X, Moller G, Nelson BD, DePierre JW: Potent suppression of the adaptive immune response in mice upon dietary exposure to the potent peroxisome proliferator, perfluorooctanoic acid. *Int Immunopharmacol* 2002, **2**:289-397.
 208. Yang Q, Xie Y, Alexson SEH, Nelson BD, DePierre JW: Involvement of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the immunomodulation caused by peroxisome proliferators in mice. *Biochem Pharmacol* 2002, **63**:1893-1900.
 209. Fang X, Zhang L, Feng Y, Zhao Y, Dai J: Immunotoxic effects of perfluorononanoic acid on BALB/c mice. *Toxicol Sci* 2008, **105**:312-321.
 210. Peden-Adams MM, Keller JM, Eudaly JG, Berger J, Gilkeson GS, Keil DE: Suppression of humoral immunity in mice following exposure to perfluorooctane sulfonate. *Toxicol Sci* 2008, **104**:144-154.
 211. Keil DE, Mehlmann T, Butterworth L, Peden-Adams MM: Gestational exposure to perfluorooctane sulfonate suppresses immune function in B6C3F1 mice. *Toxicol Sci* 2008, **103**:77-85.
 212. Qazi MR, Bogdanska J, Butenhoff JL, Nelson BD, DePierre JW, Abedi-Valugerdi M: High-dose, short-term exposure of mice to perfluorooctanesulfonate (PFOS) or perfluorooctanoate (PFOA) affects the number of circulating neutrophils differently, but enhances the inflammatory responses of macrophages to lipopolysaccharide (LPS) in a similar fashion. *Toxicology* 2009, **262**:207-214.
 213. Qazi MR, Nelson BD, Depierre JW, Abedi-Valugerdi M: 28-Day dietary exposure of mice to a low total dose (7 mg/kg) of perfluorooctanesulfonate (PFOS) alters neither the cellular compositions of the thymus and spleen nor humoral immune responses: Does the route of administration play a pivotal role in PFOS-induced immunotoxicity? [abstract]. *Toxicology* 2009, **267**:132-139.
 214. Guruge KS, Hikono H, Shimada N, Murakami K, Hasegawa J, Yeung LW, Yamanaka N, Yamashita N: Effect of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on influenza A virus-induced mortality in female B6C3F1 mice. *J Toxicol Sci* 2009, **3**:687-691.
 215. DeWitt JC, Copeland CB, Luebke RW: Suppression of humoral immunity by perfluorooctanoic acid is independent of elevated serum corticosterone concentration in mice. *Toxicol Sci* 2009, **109**:106-112.
 216. DeWitt JC, Shnyra A, Badr MZ, Loveless SE, Hoban D, Frame SR, Cunard R, Anderson SE, Meade BJ, Peden-Adams MM, Luebke RW, Luster MI: Immunotoxicity of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and the role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Crit Rev Toxicol* 2009, **39**:76-94.
 217. Hu XZ, Hu DC: Effects of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate exposure on hepatoma Hep G2 cells. *Arch Toxicol* 2009, **83**:851-861.
 218. Eriksen KT, Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Roursgaard M, Loft S, Møller P: Genotoxic potential of the perfluorinated chemicals PFOA, PFOS, PFBS, PFNA and PFHxA in human HepG2 cells. *Mutat Res* 2010, **700**:39-43.
 219. Qian Y, Ducatman A, Ward R, Leonard S, Bukowski V, Lan Guo N, Shi X, Vallyathan V, Castranova V: Perfluorooctane sulfonate (PFOS) induces reactive oxygen species (ROS) production in human microvascular endothelial cells: role in endothelial permeability. *J Toxicol Environ Health A* 2010, **73**:819-836.
 220. Sohlenius AK, Eriksson AM, Hogstrom C, Kimland M, DePierre JW: Perfluorooctane sulfonic acid is a potent inducer of peroxisomal fatty acid β -oxidation and other activities known to be affected by peroxisome proliferators in mouse liver. *Pharmacol Toxicol* 1993, **72**:90-93.
 221. Vanden Heuvel JP, Thompson JT, Frame SR, Gillies PJ: Differential activation of nuclear receptors by perfluorinated fatty acid analogs and natural fatty acids: a comparison of human, mouse, and rat peroxisome proliferator-activated receptor- α , - β , and - γ , liver α receptor- β , and retinoid α receptor- α . *Toxicol Sci* 2006, **92**:476-489.
 222. Ikeda T, Aiba K, Fukuda K, Tanaka M: The induction of peroxisome proliferation in rat liver by perfluorinated fatty acids, metabolically inert derivatives of fatty acids. *J Biochem* 1985, **98**:475-482.
 223. Sohlenius AK, Andersson K, DePierre JW: The effects of perfluorooctanoic acid on hepatic peroxisome proliferation and related parameters show no sex-related differences in mice. *Biochem J* 1992, **285**:779-783.
 224. Pastoor TP, Lee KP, Perri M, Gillies PJ: Biochemical and morphological studies of ammonium perfluorooctanoate-induced hepatomegaly and peroxisome proliferation. *Exp Mol Pathol* 1987, **47**:98-109.
 225. Shipley JM, Hurst CH, Tanaka SS, DeRoos FL, Butenhoff JL, Seacat AM, Waxman DJ: Trans-activation of PPAR α and induction of PPAR α target genes by perfluorooctane-based chemicals. *Toxicol Sci* 2004, **80**:151-160.
 226. Maloney EK, Waxman DJ: Trans-activation of PPAR α and PPAR γ by structurally diverse environmental chemicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999, **161**:209-218.
 227. Takacs ML, Abbott BD: Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptors (α , β , δ , γ) by perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate. *Toxicol Sci* 2007, **95**:108-117.
 228. Nakamura T, Ito Y, Yanagiba Y, Ramdhan DH, Kono Y, Naito H, Hayashi Y, Li Y, Aoyama T, Gonzalez FJ, Nakajima T: Microgram-order ammonium perfluorooctanoate may activate mouse peroxisome proliferator-activated receptor α , but not human PPAR α . *Toxicology* 2009, **265**:27-33.
 229. Haugom B, Spydevold Ø: The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulphonic acid (PFOSA) and clofibrate. *Biochim Biophys Acta* 1992, **1128**:65-72.
 230. Martin MT, Brennan RJ, Hu W, Ayanoglu E, Lau C, Ren H, Wood CR, Corton JC, Kavlock RJ, Dix DJ: Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicol Sci* 2007, **97**:595-613.
 231. Yin Yeung W, Guruge KS, Yamanaka N, Miyazaki S, Lam PKS, Yamashita N, Geisy JP: Gene expression profiles in rat liver treated with

Stahl et al. *Environmental Sciences Europe* 2011, **23**:38
<http://www.enveurope.com/content/23/1/38>

Page 51 of 52

- pentadecafluorooctanoic acid (PFOA). 9th "Fluoros" International Symposium on Fluorinated Alkyl Organics in the Environment August 19-20 2005; Toronto Toronto; University of Toronto; 2005.
232. Guruge KS, Yeung LWY, Yamanaka N, Miyazaki S, Lam PKS, Giesy JP, Jones PD, Yamashita N: **Gene expression profiles in rat liver treated with perfluorooctanoic acid (PFOA).** *Toxicol Sci* 2006, **89**:93-107.
233. Rosen MB, Thibodeaux JR, Wood CR, Zehr RD, Schmid JE, Lau C: **Gene expression profiling in the lung and liver of PFOA-exposed mouse fetuses.** *Toxicology* 2007.
234. Peters JM, Hennuyer N, Staels B, Fruchart JC, Fievet C, Gonzalez FJ: **Alterations in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-deficient mice.** *J Biol Chem* 1997, **272**:27307-27312.
235. Minata M, Harada KH, Kärman A, Hitomi T, Hirose M, Murata M, Gonzalez FJ, Koizumi A: **Role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in hepatobiliary injury induced by ammonium perfluorooctanoate in mouse liver.** *Ind Health* 2010, **48**:96-107.
236. Elcombe CR, Elcombe BM, Farrar DG, Foster JR: **Characterization of ammonium perfluorooctanoic acid (APFO) induced hepatomegaly in rats.** *Toxicology* 2007, **240**:172-173.
237. Ren H, Vallanat B, Nelson DM, Yeung LW, Guruge KS, Lam PK, Lehman-McKeeman LD, Corton JC: **Evidence for the involvement of xenobiotic-responsive nuclear receptors in transcriptional effects upon perfluoroalkyl acid exposure in diverse species.** *Reprod Toxicol* 2009, **27**:266-277.
238. Hu W, Jones PD, Upham BL, Trosko JE, Lau C, Giesy JP: **Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated compounds in rat liver and dolphin kidney epithelial cell lines in vitro and Sprague-Dawley rats in vivo.** *Toxicol Sci* 2002, **68**:429-436.
239. Upham BL, Park JS, Babica P, Sovadinova I, Rummel AM, Trosko JE, Hirose A, Hasegawa R, Kanno J, Sai K: **Structure-activity-dependent regulation of cell communication by perfluorinated fatty acids using in vivo and in vitro model systems.** *Environ Health Perspect* 2009, **117**:545-551.
240. Ehresman DJ, Froehlich JW, Olsen GW, Chang SC, Butenhoff JL: **Comparison of human whole blood, plasma, and serum matrices for the determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and other fluorochemicals.** *Environ Res* 2007, **103**:176-184.
241. Kudo N, Suzuki-Nakajima E, Mitumoto A, Kawashima Y: **Responses of the liver to perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in male and female mice: in relation to induction of hepatomegaly, peroxisomal β -oxidation and microsomal 1-acylglycerophosphocholine acyltransferase.** *Biol Pharm Bull* 2006, **29**:1952-1957.
242. Permadi H, Lundgren B, Andersson K, Sundberg C, DePierre JW: **Effects of perfluoro fatty acids on peroxisome proliferation on mitochondrial size in mouse liver: dose and time factors and effect of chain length.** *Xenobiotic* 1993, **23**:761-770.
243. Wei Y, Shi X, Zhang H, Wang J, Zhou B, Dai J: **Combined effects of polyfluorinated and perfluorinated compounds on primary cultured hepatocytes from rare minnow (*Gobiocypris rarus*) using toxicogenomic analysis.** *Aquat Toxicol* 2009, **95**:27-36.
244. Jernbro S, Rocha PS, Keiter S, Skutlarek D, Färber H, Jones PD, Giesy JP, Hollert H, Engwall M: **Perfluorooctane sulfonate increases the genotoxicity of cyclophosphamide in the micronucleus assay with V79 cells-further proof of alterations in cell membrane properties caused by PFOS.** *Env Sci Pollut Res* 2007, **14**:85-87.
245. Watanabe MX, Jones SP, Iwata H, Kim EY, Kennedy SW: **Effects of co-exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and perfluorooctane sulfonate or perfluorooctanoic acid on expression of cytochrome P450 isoforms in chicken (*Gallus gallus*) embryo hepatocyte cultures.** *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2009, **149**:605-612.
246. Alexander BH, Olsen GW, Burris JM, Mandel JH, Mandel JS: **Mortality of employees of a perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing facility.** *Occup Environ Med* 2003, **60**:722-729.
247. Alexander BH, Olsen GW: **Bladder cancer in perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing workers.** *Ann Epidemiol* 2007, **17**:471-478.
248. Grice MM, Alexander BH, Hoffbeck R, Kampa DM: **Self-reported medical conditions in perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing workers.** *J Occup Environ Med* 2007, **49**:722-729.
249. Gilliland FD, Mandel JS: **Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid production plant.** *J Occup Med* 1993, **35**:950-954.
250. Alexander BH: **Mortality Study of Workers Employed at the 3 M Cottage Grove Facility. Final Report Division of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, University of Minnesota, 2001 EPA AR226-1030a018; 2001.**
251. Lundin JL, Alexander BH, Olsen GW, Church TR: **Ammonium perfluorooctanoate production and occupational mortality.** *Epidemiology* 2009, **20**:921-928.
252. DuPont 2003: **Epidemiology surveillance report: cancer incidence for Washington Works site 1959-2001.** *US EPA Administrative Record*, AR-226-1307-7.
253. DuPont 2006: **Ammonium perfluorooctanoate: phase II. Retrospective cohort analysis related to a serum biomarker of exposure in polymer production plant.** *US EPA Administrative Record*, 8EHQ-0381-0394.
254. Gilliland FD, Mandel JS: **Serum perfluorooctanoic acid and hepatic enzymes, lipoproteins and cholesterol: a study of occupationally exposed men.** *Am J Ind Med* 1996, **29**:560-568.
255. Olsen GW, Burris JM, Burlew MM, Mandel JH: **Plasma cholecystokinin and hepatic enzymes, cholesterol and lipoproteins in ammonium perfluorooctanoate production workers.** *Drug Chem Toxicol* 2000, **23**:603-620.
256. Olsen GW, Zobel LR: **Assessment of lipid, hepatic, and thyroid parameters with serum perfluorooctanoate (PFOA) concentrations in fluorochemical production workers.** *Int Arch Occup Environ Health* 2007, **81**:231-246.
257. Olsen GW, Gilliland FD, Burlew MM, Burris JM, Mandel JS, Mandel JH: **An epidemiological investigation of reproductive hormones in men with occupational exposure to perfluorooctanoic acid.** *J Occ Env Med* 1998, **40**:614-622.
258. Sakr CJ, Leonard RC, Kreckmann KH, Slade MD, Cullen MR: **Longitudinal study of serum lipids and liver enzymes in workers with occupational exposure to ammonium perfluorooctanoate.** *J Occup Environ Med* 2007, **49**:872-879.
259. Sakr CJ, Symons JM, Kreckmann KH, Leonard RC: **Ischaemic heart disease mortality study among workers with occupational exposure to ammonium perfluorooctanoate.** *Occup Environ Med* 2009, **66**:699-703.
260. Costa G, Sartori S, Consonni D: **Thirty years of medical surveillance in perfluorooctanoic acid production workers.** *J Occup Environ Med* 2009, **51**:364-372.
261. Bloom MS, Kannan K, Spliethoff HM, Tao L, Aldous KM, Vena JE: **Exploratory assessment of perfluorinated compounds and human thyroid function.** *Physiol Behav* 2010, **99**:240-245.
262. Pirali B, Negri S, Chytiris S, Perissi A, Villani L, La Manna L, Cottica D, Ferrari M, Imbriani M, Rotondi M, Chiovato L: **Perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in surgical thyroid specimens of patients with thyroid diseases.** *Thyroid* 2009, **19**:1407-1412.
263. Melzer D, Rice N, Depledge MH, Henley WE, Galloway TS: **Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey.** *Environ Health Perspect* 2010, **118**:686-692.
264. Emmett EA, Zhang H, Shofer FS, Freeman D, Rodway NV, Desai C, Shaw LM: **Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum levels and certain health parameters.** *J Occup Environ Med* 2006, **48**:771-779.
265. Nelson JW, Hatch EE, Webster TF: **Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and cholesterol, body weight, and insulin resistance in the general U.S. population.** *Environ Health Perspect* 2010, **118**:197-202.
266. Steenland K, Tinker S, Frisbee S, Ducatman A, Vaccaro V: **Association of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate with serum lipids among adults living near a chemical plant.** *Am J Epidemiol* 2009, **170**:1268-1278.
267. Steenland K, Fletcher T, Savitz DA: **Epidemiologic evidence on the health effects of perfluorooctanoic acid (PFOA).** *Environ Health Perspect* 2010, **118**:1100-1108.
268. Anderson-Mahoney P, Kotlerman J, Takhar H, Gray D, Dahlgren J: **Self-reported health effects among community residents exposed to perfluorooctanoate.** *New Solut* 2008, **18**:129-143.
269. Lin CY, Chen PC, Lin YC, Lin LY: **Association among serum perfluoroalkyl chemicals, glucose homeostasis, and metabolic syndrome in adolescents and adults.** *Diabetes Care* 2009, **32**:702-707.
270. MacNeil J, Steenland NK, Shankar A, Ducatman A: **A cross-sectional analysis of type II diabetes in a community with exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA).** *Environ Res* 2009, **109**:997-1003.

Stahl et al. *Environmental Sciences Europe* 2011, **23**:38
http://www.enveurope.com/content/23/1/38

Page 52 of 52

271. Leonard RC, Kreckmann KH, Sakr CJ, Symons JM: **Retrospective cohort mortality study of workers in a polymer production plant including a reference population of regional workers.** *Ann Epidemiol* 2008, **18**:15-22.
272. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R: **Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth.** *Environ Health Perspect* 2009, **117**:660-667.
273. Hamm MP, Cherry NM, Martin JW, Bamforth F, Burstyn I: **The impact of isolated maternal hypothyroxinemia on perinatal morbidity.** *J Obstet Gynecol Can* 2009, **31**:1015-1021.
274. Nolan LA, Nolan JM, Shofer FS, Rodway NV, Emmett EA: **The relationship between birth weight, gestational age and perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water.** *Reprod Toxicol* 2009, **27**:231-238.
275. Nolan LA, Nolan JM, Shofer FS, Rodway NV, Emmett EA: **Congenital anomalies, labor/delivery complications, maternal risk factors and their relationship with perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water [abstract].** *Reprod Toxicol* 2010, **29**:147-155.
276. Stein CR, Savitz DA, Dougan M: **Serum levels of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and pregnancy outcome.** *Am J Epidemiol* 2009, **170**:837-846.
277. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J: **Prenatal exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) and maternally reported developmental milestones in infancy.** *Environ Health Perspect* 2008, **116**:1391-1395.
278. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J: **Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity.** *Hum Reprod* 2009, **24**:1200-1205.
279. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J: **Maternal concentrations of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) and duration of breastfeeding.** *Scand J Work Environ Health* 2010, **36**:413-421.
280. Hoffman K, Webster TF, Weisskopf MG, Weinberg J, Vieira VM: **Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and attention deficit hyperactivity disorder in U.S. children aged 12-15 years.** *Environ Health Perspect* 2010, **118**:1762-1767.
281. Olsen GW, Chang SC, Noker PE, Gorman GS, Ehresman DJ, Lieder PH, Butenhoff JL: **A comparison of the pharmacokinetics of perfluorobutanesulfonate (PFBS) in rats, monkeys and humans.** *Toxicology* 2009, **256**:65-74.
282. Steenland K, Tinker S, Shankar A, Ducatman A: **Association of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) with uric acid among adults with elevated community exposure to PFOA.** *Environ Health Perspect* 2010, **118**:229-233.
283. Butenhoff JL, Kennedy GL, Hinderliter PM, Lieder PH, Jung R, Hansen KJ, Gorman GS, Noker PE, Thomford PJ: **Pharmacokinetics of perfluorooctanoate in cynomolgus monkeys.** *Toxicol Sci* 2004, **82**:394-406.
284. Yeung LW, Loi EI, Wong VY, Guruge KS, Yamanaka N, Tanimura N, Hasegawa J, Yamashita N, Miyazaki S, Lam PK: **Biochemical responses and accumulation properties of long-chain perfluorinated compounds (PFOS/PFOA) in juvenile chickens (*Gallus gallus*).** *Arch Environ Contam Toxicol* 2009, **57**:377-386.
285. Chang SC, Thibodeaux JR, Eastvold ML, Ehresman DJ, Bjork JA, Froehlich JW, Lau C, Singh RJ, Wallace KB, Butenhoff JL: **Thyroid hormone status and pituitary function in adult rats given oral doses of perfluorooctanesulfonate (PFOS).** *Toxicology* 2008, **243**:330-339.
286. Hanhijarvi H, Ophaug RH, Singer L: **The sex-related difference in perfluorooctanoate excretion in the rat.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1982, **171**:50-5.
287. Dean WP, Jessup AC: **Acute oral toxicity (LD50) study in rats.** *International research and development corporation, Study 137-091* 1978, US EPA AR226-0419.
288. Li MH: **Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to plants and aquatic invertebrates.** *Environ Toxicol* 2009, **24**:95-100.
289. Van Gossum H, Bots J, Snijders T, Meyer J, Van Wassenbergh S, De Coen W, De Bruyn L: **Behaviour of damselfly larvae (*Enallagma cyathigerum*) (Insecta, Odonata) after long-term exposure to PFOS.** *Environ Pollut* 2009, **157**:1332-1336.
290. Goldenthal EI, Jessup DC, Geil RG, Mehling JS: **Ninety-Day Subacute Rat Toxicity Study 137-085** International Research and Development Corporation; 1978.
291. Gortner EG: **Oral Teratology Study of FC-95 in Rats.** *Riker Laboratories, Inc. Experiment Number: 0680TR0008, December, 1980.* AR-226 226-0016 US Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA; 1980.
292. Wetzel LT: **Rat teratology study, T-3351, final report.** *Hazleton Laboratories America, Inc. Project Number: 154-160, December 19, 1983.* US EPA AR-226 226-0014 1983.
293. Case MT, York RG, Christian MS: **Rat and rabbit oral developmental toxicology studies with two perfluorinated compounds.** *Int J Toxicol* 2001, **20**:101-109.
294. Yahia D, Tsukuba C, Yoshida M, Sato I, Tsuda S: **Neonatal death of mice treated with perfluorooctane sulfonate.** *J Toxicol Sci* 2008, **33**:219-226.
295. White SS, Calafat AM, Kuklenyik Z, Villaneuva LT, Zehr RD, Helfant L, Strynar MJ, Lindstrom AB, Thibodeaux JR, Wood C, Fenton SE: **Gestational PFOA exposure of mice is associated with altered mammary gland development in dams and female offspring.** *Toxicol Sci* 2007, **96**:133-144.
296. Zheng L, Dong GH, Jin YH, He QC: **Immunotoxic changes associated with a 7-day oral exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in adult male C57BL/6 mice.** *Arch Toxicol* 2009, **83**:679-689.
297. Dong GH, Zhang YH, Zheng L, Liu W, Jin YH, He QC: **Chronic effects of perfluorooctanesulfonate exposure on immunotoxicity in adult male C57BL/6 mice.** *Arch Toxicol* 2009, **83**:805-815.
298. Qazi MR, Xia Z, Bogdanska J, Chang SC, Ehresman DJ, Butenhoff JL, Nelson BD, DePierre JW, Abedi-Valugerdi M: **The atrophy and changes in the cellular compositions of the thymus and spleen observed in mice subjected to short-term exposure to perfluorooctanesulfonate are high-dose phenomena mediated in part by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR alpha).** *Toxicology* 2009, **260**:68-76.
299. Lefebvre DE, Curran I, Armstrong C, Coady L, Parenteau M, Liston V, Barker M, Aziz S, Rutherford K, Bellon-Gagnon P, Shenton J, Mehta R, Bondy G: **Immunomodulatory effects of dietary potassium perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure in adult Sprague-Dawley rats.** *J Toxicol Environ Health A* 2008, **71**:1516-1525.
300. DeWitt JC, Copeland CB, Strynar MJ, Luebke RW: **Perfluorooctanoic acid-induced immunomodulation in adult C57BL/6J or C57BL/6N female mice.** *Environ Health Perspect* 2008, **116**:644-650.

doi:10.1186/2190-4715-23-38

Cite this article as: Stahl et al.: Toxicology of perfluorinated compounds. *Environmental Sciences Europe* 2011 **23**:38.

Submit your manuscript to a SpringerOpen® journal and benefit from:

- Convenient online submission
- Rigorous peer review
- Immediate publication on acceptance
- Open access: articles freely available online
- High visibility within the field
- Retaining the copyright to your article

Submit your next manuscript at ► springeropen.com

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Hazardous Materials

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhazmat

Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids

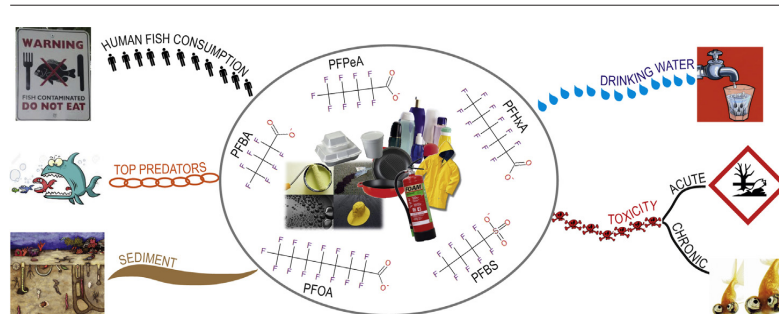
Sara Valsecchi^{a,*}, Daniela Conti^b, Riccardo Crebelli^c, Stefano Polesello^a, Marianna Rusconi^a, Michela Mazzoni^a, Elisabetta Preziosi^d, Mario Carere^c, Luca Lucentini^c, Emanuele Ferretti^c, Stefania Balzamo^b, Maria Gabriella Simeone^b, Fiorella Aste^e

^a IRSA-CNR, Water Research Institute, Via del Mulino 19, 20861 Brugherio, Italy^b ISPRA- Environmental Metrology Unit, Via di Castel Romano 100, 00128 Rome, Italy^c ISS—National Health Institute, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy^d IRSA-CNR, Water Research Institute, Via Salaria Km 29,300, Monterotondo Scalo Rome, 00015, Italy^e Ministry of the Environment, Land and Sea, Via Cristoforo Colombo 44, 00147 Rome, Italy

HIGHLIGHTS

- Environmental Quality Standards (EQS) for selected perfluoroalkylacids are derived.
- For PFBA, PFPeA, PFHxA and PFBS the QS for drinking water are adopted as EQS.
- For PFOA the QS based on secondary poisoning of predators is adopted as EQS.
- 7, 3, 1, 3 and 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PFBA, PFPeA, PFHxA, PFBS and PFOA are set as EQS.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 February 2016

Received in revised form 18 April 2016

Accepted 21 April 2016

Available online xxx

Keywords:

Environmental quality standard

Hazard/risk assessment

Perfluorinated compounds

PFOA

Short chain perfluoroalkyl acids

ABSTRACT

The evidence that in Northern Italy significant sources of perfluoroalkylacids (PFAA) are present induced the Italian government to establish a Working Group on Environmental Quality Standard (EQS) for PFAA in order to include some of them in the list of national specific pollutants for surface water monitoring according to the Water Framework Directive (2000/60/EC). The list of substances included perfluorooctanoate (PFOA) and related short chain PFAA such as perfluorobutanoate (PFBA), perfluoropentanoate (PFPeA), perfluorohexanoate (PFHxA) and perfluorobutanesulfonate (PFBS), which is a substitute of perfluorooctanesulfonate. For each of them a dossier collects available data on regulation, physico-chemical properties, emission and sources, occurrence, acute and chronic toxicity on aquatic species and mammals, including humans.

Quality standards (QS) were derived for the different protection objectives (pelagic and benthic communities, predators by secondary poisoning, human health via consumption of fishery products and water) according to the European guideline. The lowest QS is finally chosen as the relevant EQS. For PFOA a QS for biota was derived for protection from secondary poisoning and the corresponding QS

* Corresponding author at: IRSA-CNR-Water Research Institute, National Research Council, Via Mulino 19, 20861, Brugherio MB, Italy.

E-mail address: valsecchi@irsa.cnr.it (S. Valsecchi).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.055>

0304-3894/© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

for water was back-calculated, obtaining a freshwater EQS of $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$. For PFBA, PFPeA, PFHxA and PFBS threshold limits proposed for drinking waters were adopted as EQS.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Because of their peculiar physical and chemical characteristics, perfluoroalkyl substance (PFAS) found wide application in several industrial processes and products such as surface treatment of textiles and paper, building paints, cosmetics, insecticide formulations, firefighting foams, and the production of fluoropolymer. Their characteristics such as resistance to hydrolysis, photolysis, microbial degradation make these substances highly persistent and widespread in all environmental compartments, especially water. PFAS include thousands of chemicals but environmental studies have mainly concentrated on perfluoroalkyl acids (PFAA) such as perfluoroalkylsulfonic acids (PFSA) and perfluoroalkylcarboxylic acids (PFCA). PFAA are low molecular weight surfactants in which all carbons are bonded to fluorine atoms, consisting of homologous series of molecules that differ in carbon chain length. The two PFAS most commonly used and found in the environment are perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA). They are widely employed in different industrial processes and their persistence in the environment associate with bioaccumulation in the trophic chain raising concern about the risks for consumers, including humans. Therefore the European Commission recently included PFOS in the list of priority substances, setting an Environmental Quality Standard (EQS) of 0.65 ng L^{-1} for freshwater and 9.1 ng g^{-1} for biota (Directive 2013/39/EC).

The hazard profile of PFOA is well known: PFOA is a persistent, bioaccumulative, and toxic (PBT) substance, which may cause severe and irreversible adverse effects on the environment and human health. PFOA has a harmonised classification in Annex VI of European Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures (CLP) as Carc. 2, Repr. 1B and STOT RE 1 (liver). Due to its PBT and CMR properties, PFOA and its ammonium salt (APFO) have been identified as substances of very high concern (SVHC) under REACH by unanimous agreement between EU Member States in July 2013.

At the moment for PFOA, no limits have been established in the aquatic environment but only a provisional threshold for drinking waters was proposed by US Environmental Protection Agency (EPA) of $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$ (EPA, 2009). Shorter chain (<C7) homologues are currently tested and used as substitutes for PFOS and PFOA in industrial processes.

The evidence that in Northern Italy significant sources of PFAAs are present and surface and ground-waters are significantly impacted [2,3] induced the Italian government to establish a Working Group on Environmental Quality Standard (EQS) for PFAAs in order to include some of them in the list of national specific pollutants for surface water monitoring and derive their EQSs for water quality assessment in the context of the Water Framework Directive (2000/60/EC). EQSs should protect freshwater and marine ecosystems from possible short and long-term adverse effects of chemicals as well as human health via drinking water or ingestion of food originating from aquatic environments.

The PFFAs were chosen by considering the statistical distribution of concentrations and frequency of detection in the Italian surface and ground waters [3,4]. The list included the following substances: PFOA and related short chain (number of carbons <7) perfluorocarboxylate namely perfluorobutanoate (PFBA), perfluoropentanoate (PFPeA) and perfluorohexanoate (PFHxA).

Perfluorobutanesulfonate (PFBS), which is a common substitute of PFOS, was considered too.

For each of them a dossier has been prepared which collects available data on regulation, physico-chemical properties, emission and sources, occurrence, acute and chronic toxicity on aquatic species and mammals, including humans.

This paper aims to present how EQSs for selected perfluoroalkylacids PFOA, PFBA, PFPeA, PFHxA and PFBS have been derived according to the European guidance document for derivation of EQSs under the Water Framework Directive [1]. By using the data in the dossiers, Quality Standards (QSs) were derived for different protection objectives based on: direct ecotoxicity to pelagic aquatic organisms; secondary poisoning of predators, human consumption of fishery products, human consumption of drinking water and to protect benthic (sediment-dwelling) species. Dossiers and proposed QSs were subject to a peer-reviewing process involving national experts of the Ministry of the Environment and international experts from other European Member States. After the reviewing process, the most protective QSs have been chosen as the national EQSs for the selected perfluoroalkylacids and adopted in the Italian legislation (Italian Legislative Decree 172/2015).

2. Methodology

EQSs were derived for PFOA and selected short chain perfluoroalkyl compounds PFBA, PFPeA, PFHxA and PFBS (referred to as SC-PFAA in the following text) in accordance with the European technical guidance document for derivation of environmental quality standards under the WFD (TGD-EQS) [1].

For each compound a dossier was compiled (Supplementary materials, SM1–SM5) according to the TGD-EQS format. This format requires regulatory information, physico-chemical data, occurrence in the different aquatic matrices, ecotoxicological data and toxicity data on mammals.

Toxicity data were collected from the scientific literature and from national and international databases. All available studies are summarised in the tables provided as Supplementary Materials (Tables SM7–SM9, with references in SM10). No toxicological data about invertebrates exposed to contaminated sediment have been found for the compounds under investigation.

The whole derived data set was properly assessed for reliability and relevance according to Klimisch et al. [5]. On this basis a selection and aggregation of the data were performed.

In order to cover both short- and long-term effects resulting from exposure, two water column EQSs is required: a short-term standard, referred to as a Maximum Allowable Concentration EQS (MAC-EQS) and a long-term standard, expressed as Annual Average Concentration EQS (AA-EQS). The MAC-EQS is based on information on direct ecotoxicological effects on aquatic organisms only. As AA-EQS is intended to protect the ecosystem, humans and predatory birds and mammals from long-term risks, it is defined as the lowest value among the derived QSs, calculated for the different protection objectives.

When the data were sufficient, the QSs were derived by probabilistic approach adopting Species Sensitivity Distribution (SSD) modelling. Otherwise, a deterministic approach was used applying appropriate assessment actors (AF) to the lowest reliable toxicity data.

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

3

Glossary

AA-EQS _{fw,eco} or AA-EQS _{sw,eco}	Annual Average Environmental Quality Standard in fresh or salt water [$\mu\text{g L}^{-1}$]
AA-QS _{fw,eco} or AA-QS _{sw,eco}	QS based on direct ecotoxicity to pelagic organisms in fresh or salt water [$\mu\text{g L}^{-1}$]
ADI	Acceptable Daily Intake [$\text{mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{d}^{-1}$]
AF	Assessment Factor
AF _{oral}	Assessment Factor applied in extrapolation of QS _{biota,secpois}
BAF	Bioaccumulation Factor [L kg^{-1}]
BCF	Bioconcentration Factor [L kg^{-1}]
BMDL10	The lower limit of the 95% confidence interval of the benchmark dose for a 10% increase in effects [$\mu\text{g kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{d}^{-1}$]
BMF1	Biomagnification Factor of a simple food web that consists of water –BCF→ aquatic organisms –BMF1→ fish → fish-eating predator
BMF2	Biomagnification Factor of a marine simple food web that consists of water –BCF→ aquatic organisms –BMF1→ fish –BMF2→ fish-eating predator → top predator
bw	Body weight [kg]
DFI	Daily Food Intake [kg d^{-1}]
EQS	Environmental Quality Standard
HC5	Hazardous concentration for 5% of the species (based on the SSD)
L(E)C50	One-half (50%) of the maximal Lethal (Effective) Concentration
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Levels [$\text{mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{d}^{-1}$]
MAC-QS _{fw,eco} or MAC-QS _{sw,eco}	Maximum Allowable Concentration in fresh or salt water (short-term QS based on acute toxicity data) [$\mu\text{g L}^{-1}$]
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level [$\text{mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{d}^{-1}$]
NOEC	No Observed Effect Concentration [$\mu\text{g L}^{-1}$ or $\mu\text{g kg}^{-1}$]
PFAA	Perfluoroalkylacids
PFBA	Perfluorobutanoate
PFBS	Perfluorobutanesulfonate
PFHxA	Perfluorohexanoate
PFOA	Perfluorooctanoate
PFOS	Perfluorooctanesulfonate
PFPeA	Perfluoropentanoate
QC	Quality Criteria
QS	Quality Standard
QS _{biota,hh}	QS based on human consumption of fishery products [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
QS _{biota,secpois,fw} or QS _{biota,secpois,sw}	QS based on secondary poisoning of predators for freshwater or saltwater compartment [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
QS _{dw,hh}	QS for human consumption of drinking water [$\mu\text{g L}^{-1}$]
QS _{fw,secpois} or QS _{sw,secpois}	QS based on secondary poisoning converted into equivalent freshwater or saltwater concentration [$\mu\text{g L}^{-1}$]
QS _{sed,fw} or QS _{sed,sw}	Sediment quality standard based on direct ecotoxicity to benthic (sediment dwelling) organisms in fresh or salt water [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
SC-PFAA	Short chain (number of carbon <7) perfluoroalkyl acids (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFBS)

SSD	Species Sensitivity Distribution model
TDI	Tolerable Daily Intake [$\text{mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{d}^{-1}$]
TGD-EQS	Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards [1]
TL	Threshold Level
TOX _{oral}	NOEC _{oral,bird} or NOEC _{oral,mammals} in $\text{kg kg}_{\text{food(fw)}}^{-1}$
WFD	Water Framework Directive (2000/60/EC)

The QSs for SC-PFAAs were determined using the deterministic approach. Only for PFOA the acute toxicity data were sufficient for statistical extrapolation of QS by implementing the SSD approach.

3. Results and discussion

3.1. Toxicity data

Among the compounds of interest the largest dataset has been collected for PFOA, which includes both acute and chronic toxicity tests on organisms exposed to water and toxicity test on mammals and birds (Tables 1 and 4, SM7, SM8 and SM9).

For the other short chain perfluoroalkyl acids, data set is much more limited. Acute toxicity data on aquatic organisms are available for all the SC-PFAA (Table 2, Table 3 and SM7) but chronic toxicity data to aquatic organisms are available only for PFBS (Table 4 and SM8). In the case of PFHxA the number of reliable data is insufficient to derive a consistent quality standard for pelagic organisms.

Few toxicity studies on mammalian diet and oral exposure are reported for PFBA, PFHxA and PFBS and only one mammalian toxicity study was found for PFPeA (SM9). For PFBA, PFPeA and PFHxA the number of studies is insufficient to derive a reliable QS_{biota,secpois}. However indicative values of the biota standards for PFBA and PFHxA are derived based on the lowest NOAEL/LOAEL available.

Saltwater ecotoxicity data are scarce and insufficient to enable a statistical comparison of the freshwater and saltwater data and to define marine quality standards based only on saltwater toxicity values. The available data, however, do not point out a difference in sensitivity, therefore, according to TGD-EQS [1], the freshwater and saltwater data are combined and separate QSs for all selected PFAAs were derived for freshwater and saltwater environments using different assessment factors (TGD-EQS). This is consistent with the provisions of REACH for marine effects assessment where a larger AF is recommended to cover the increased uncertainty resulting from the larger diversity of marine ecosystems and the limited availability of effects data for marine life forms. No toxicological data of invertebrates exposed to contaminated sediment were available for any examined compound.

3.2. Derivation of QS from direct toxicity in the water column

3.2.1. MAC-QS_{water,eco} for PFOA

Short term or acute toxicity tests are used to derive a Maximum Acceptable Concentration-QS (Table 1). Short term toxicity PFOA dataset contains reliable L(E)C50 values from 24 different species covering 8 taxonomic groups (including algae, crustacean, rotifers, insect, annelids, echinodermata, amphibian and fish). The range of taxonomic groups covered and the number of L(E)C50 values from different species fulfil the TGD-EQS requirements for the use of the SSD to derive the MAC-QS. Acute toxicity data have been aggregated to one toxicity value per species, unreliable tests [5] were excluded from elaboration and SSD generator V₁₋₁₂ [6] has been used to calculate the hazardous concentration for 5% of species (HC5). Details on data selection and SSD elaboration are reported in Supplementary Materials (Table SM6, with references in SM10). The estimated

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

4

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

Table 1
PFOA acute aquatic toxicity (The full dataset is available in Table SM7, with references in SM10).

	Species	Exp time	Endpoint	LC50 (95% CI) mg L ⁻¹	EC50 (95% CI) mg L ⁻¹	References
Freshwater Cyanobacteria	<i>Gettlerinema amphibium</i>	72 h	biomass ^a		247.8 ± 12.4 ^b	[45]
	<i>Anabaena CPB4337</i>	24 h	luminescence inhibition		19.81 (15.44–26.44)	[46]
Algae	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	72 h	growth rate and biomass		>100	[47]
	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	96 h			>100	
	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	72 h	growth rate and biomass		>400	[11]
	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	96 h			>400	
	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	72 h	growth inhibition (biomass)		96.2 (88.6–113.7)	[48]
Invertebrata: Crustacean	<i>Pseudochirchineriella subcapitata</i>	4.5 h	photosynthesis		746.40 (726.99–768.29)	[49]
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	96 h	not reported		269.63 (207.83–349.82)	[50]
	<i>Chilamydomonas reinhardtii</i>	96 h	growth inhibition		51.9 ± 1.0	[51]
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	96 h	growth inhibition		44.0 ± 1.5	[51]
	<i>Chlorella vulgaris</i>	72 h	biomass ^a		974.82 ± 49.56 ^b	[45]
	<i>Daphnia magna</i>	48 h	immobilization		480	[11]
	<i>Daphnia magna</i>	48 h	immobilization		480	[47]
	<i>Daphnia magna</i>	24 h	immobilization		675.05 (559.62–790.50)	[52]
	<i>Daphnia magna</i>	48 h			476.52 (375.32–577.72)	
	<i>Daphnia magna</i>	24 h	immobilization		219.33 (209.01–229.25)	[53]
Invertebrata: Rotifers	<i>Daphnia magna</i>	48 h			211.07 (184.22–254.86)	
	<i>Chydorus sphaericus</i>	24 h	immobilization		175.96 (92.11–221.81)	
	<i>Chydorus sphaericus</i>	48 h			116.48 (50.39–142.51)	
	<i>Moina macrocopa</i>	24 h	immobilization		348.76 (272.65–424.87)	[52]
	<i>Moina macrocopa</i>	48 h			199.51 (153.89–245.13)	
	<i>Daphnia magna</i>	48 h	mortality	201.85 (134.68–302.50)		[50]
	<i>Daphnia magna</i>	24 h	immobilization		298 (278–321)	[54]
	<i>Daphnia magna</i>	48 h			181 (166–198)	
	<i>Neocaridina denticulata</i> (green neon shrimp)	24 h	mortality	>1000 712(663–764)		[54]
	<i>Macrobrachium nipponense</i> (freshwater shrimp)	48 h		546 (502–594)		
Invertebrata: Rotifers	<i>Macrobrachium nipponense</i> (freshwater shrimp)	72 h		454 (418–494)		
	<i>Macrobrachium nipponense</i> (freshwater shrimp)	96 h	mortality	366.66 (253.09–531.18)		[50]
	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24 h	mortality	150		[55]

Please cite this article in press as: S. Valsecchi, et al., Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids, J. Hazard. Mater. (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.055>

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

5

Table 1 (Continued)

	Species	Exp time	Endpoint	LC50 (95% CI) mg L ⁻¹	EC50 (95% CI) mg L ⁻¹	References
Invertebrata: Gastropoda	<i>Physa acuta</i>	24 h	mortality	856 (768–954)		[54]
		48 h		732 (688–779)		
		72 h		697 (661–735)		
	<i>Cipangopaludina cathayensis</i>	96 h	mortality	672 (635–711)		[50]
Invertebrata: Platyhelminthes		96 h		740.07		
				(597.66–916.41)		
	<i>Dugesia japonica</i>	24 h	mortality	352 (331–374)		[54]
		48 h		345 (325–366)		
Invertebrata: Insecta		72 h		343 (324–364)		
		96 h		337 (318–357)		
	<i>Chironomus plumosus</i>	96 h	mortality	402.24		[50]
				(323.83–499.63)		
Invertebrata: Anellida	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	96 h	mortality	568.20		[50]
				(476.33–677.80)		
Vertebrata: Amphibia	<i>Bufo gargarizans</i>	96 h	mortality	114.74		[50]
				(83.02–158.58)		
Vertebrata: Fish	<i>Pseudorasbora parva</i>	96 h	mortality	365.02		[50]
				(269.78–493.86)		
	<i>Carassius auratus</i>	96 h	mortality	606.61		[50]
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout)	96 h	mortality	707		[11]
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout)	96 h	mortality	800		[11]
	<i>Danio rerio</i> (zebrafish embryo test)	144 hpf	mortality	430		[56]
				(290–710)		
Marine water	<i>Danio rerio</i> (zebrafish embryo test)	96 hpf	mortality and malformation effects	>500	350 (290–430)	[57]
		120 hpf	mortality and malformation effects ^c	>500	205.72 (168.25–251.53)	
					113.05 (96.22–132.84)	
	<i>Vibrio fischeri</i>	30 min	luminescence inhibition		570.19 ± 57.33	[58]
Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	15 min	luminescence inhibition		524	[48]
					(505–538)	
	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	15 min	luminescence inhibition		14.65	[7]
	<i>Skeletonema marinoi</i>	72 h	biomass ^a		367.52 ± 16.5 ^b	[45]
Algae	<i>Isochrysis galbana</i>	72 h	growth inhibition		163.6	[59]
					(131.7–203.2)	
Invertebrata: Crustacea	<i>Siriella armata</i>	96 h	mortality	15.5		[59]
				(13.0–18.6)		
Invertebrata: Echinodermata	<i>Paracentrotus lividus</i>	48 h	growth inhibition		110.0 (99.2–121.9)	[59]
	<i>Petta maxima</i>	144 h	abnormalities/mortality	11.9		[59]
				(9.5–14.9)		

Notes: hpf: hours post fertilization.

^a biomass assessed by optical density.^b standard deviation.^c malformation of head and tail and effects on growth.

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

6

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

Table 2
PBFA, PFPeA, PFHxA acute aquatic toxicity (The full dataset is available in Table SM7, with references in SM10).

	Species	Exp time	Endpoint	LC50 (95% CI) mg L ⁻¹	EC50 (95% CI) mg L ⁻¹	References
Freshwater						
PBFA						
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	4.5 h	photosynthesis		260.96 (213.03–319.55) ^a	[49]
Invertebrata: Crustacean	<i>Daphnia magna</i>	24 h	immobilization		184.27 (182.78–185.55) ^a	[53]
		48 h			>4260.6 ^b	
					180.65 (179.15–182.35) ^a	
					>4260.6 ^b	
	<i>Chydorus sphaericus</i>	24 h	immobilization		534.49 (513.19–555.37) ^a	[53]
		48 h			>4.26 ^b	
					460.14 (440.97–479.10) ^a	
					>4260.6 ^b	
Invertebrata: Rotifera	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24 h	mortality	110 ^a		[8]
Vertebrata: Fish	<i>Danio rerio</i>	144 hpf	mortality	>3000 ^a		[56]
		96 hpf	mortality and malformation effects	>3000 ^b	>2200 (1200–22,000) ^{a,d}	[57]
	<i>Danio rerio</i>	120 hpf	mortality and malformation effects ^e	>3000 ^b		
PFPeA						
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h	biomass		81.7 (76.7–87.5)	[9]
Invertebrata: Crustacean	<i>Daphnia magna</i>	48 h	immobilization		>112	[9]
Invertebrata: Rotifera	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24 h	mortality	130		[8]
Vertebrata: Fish	<i>Pimephales promelas</i>	96 h	mortality	31.8 (10.3–98.3)		[9]
PFHxA						
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h	biomass	>100		[9]
Invertebrata: Rotifera	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24 h	mortality	140		[8]
Invertebrata: Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	48 h	mortality	>96.5		[9]
Vertebrata: Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96 h	mortality	>99.2		[9]
Marine water						
PBFA						
Bacteria	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	15 min	luminescence inhibition		14.07	[7]
PFPeA						
Bacteria	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	15 min	luminescence inhibition		16.22	[7]
PFHxA						
Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	30 min	luminescence inhibition		1335.39 ± 123.18	[58]
	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	15 min	luminescence inhibition		17.20	[7]
Cyanobacteria	<i>Geitlerinema amphibia</i>	72 h	biomass ^f		995.49 ± 50.09 ^c	[45]
Algae	<i>Chlorella vulgaris</i>	72 h	biomass ^f		4019.51 ± 200.35 ^c	[45]
	<i>Skeletonema marinoi</i>	72 h	biomass ^f		1477.58 ± 72.00 ^c	[45]

Notes: hpf: hours post fertilization.

^a test without pH adjustment.^b test with pH adjustment.^c standard deviation.^d values based on combined sublethal and lethal embryotoxicity effect data.^e malformation of head and tail and effects on growth.^f biomass assessed by optical density.

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

7

Table 3

PFBS acute aquatic toxicity (The full dataset is available in Table SM7, with references in SM10).

	Species	Exp time	Endpoint	LC50 (95% CI) mg L ⁻¹	EC50 (95% CI) mg L ⁻¹	References
Freshwater						
Sewage microorganisms		3 h	respiration inhibition		>1000	[10]
Cyanobacteria	<i>Anabaena</i> CPB4337	30 min	bioluminescence inhibition		8386	[48]
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h	growth inhibition (biomass)		(7752–8693) >20250 (37% growth inhibition at 20,250 mg L ⁻¹)	[48]
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	96 h	growth inhibition		5733	[10]
			biomass		(5659–5817) 2347	
Invertebrata: Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	48 h	immobilization		(2018–2707) 2183	[10]
Vertebrata: Fish	<i>Danio rerio</i>	144 hpf	mortality and malformation effects ^a	1500 (1100–1900)	(1707–3767)	[56]
	<i>Danio rerio</i>	96 hpf	mortality and malformation effects ^a	>3000	450 (350–600) ^b 1900.78	[57]
		120 hpf		>3000	(1728.76–2089.92) ^b 1592.32 (1316.19–1776.96) ^b	
	<i>Pimephales promelas</i> (fathead minnow) ^c	96 h	mortality	1938 (888–3341)		[10]
	<i>Lepomis macrochirus</i> (bluegill sunfish) ^d	96 h	mortality	6452		[10]
Marine water						
Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	15 min	bioluminescence inhibition		17,520	[48]
Invertebrata: Crustacea	<i>Mysidopsis bahia</i> (mysid shrimp)	96 h	mortality and abnormal behaviour		(16,850–18,200) 372	[10]
					(314–440)	

Notes: hpf: hours post fertilization.

^a malformation of head and tail and effects on growth.^b values based on combined sublethal and lethal embryotoxicity effect data.^c juveniles 35 ± 5 mm and mean wet weight 320 ± 100 mg.^d juveniles 44 ± 10 mm and mean wet weight 1000 ± 600 mg.

median of the HC5 is 22.2 mg L⁻¹. To take into account the residual uncertainty, a default assessment factor of 10 is applied and an MAC-QS for the freshwater environment of 2.22 mg L⁻¹ is derived (Table 5).

Short-term L(E)C50 are available for marine algae, crustacea and fish and only one additional short-term toxicity data from a specific saltwater taxonomic group (Echinodermata) is available. In this situation HC5 calculated from the combined dataset is used to derive the QS_{sw,eco} applying an additional AF of 5 was used, giving an MAC-QS for the marine environment of 0.450 mg L⁻¹ (Table 5).

3.2.2. MAC-QS_{water,eco} for SC-PFAA

Short-term toxicity data are available for five taxonomic groups (bacteria, algae, plant, crustaceans, rotifers and fish) for PFBA, PFPeA and PFHxA and only for four taxonomic groups (bacteria, algae, crustaceans and fish) for PFBS. Though the acute base set (algae, Daphnia, fish) is complete, the range of taxonomic groups covered is insufficient to enable the use of SSD to derive the MAC-QS. Therefore, the assessment factor approach has been used for all the SC-PFAAs.

The TGD-EQS [1] recommend that, when there are at least 3 short-term tests of species from three trophic levels of the base set (algae, Daphnia, fish) and the standard deviation (SD) of the log transformed acute toxicity data is <0.5, the MAC-QS_{fw,eco} is derived by applying an assessment factor of 10 to the lowest L(E)C50. Conversely, when the log transformed acute toxicity data SD is >0.5 the

MAC-QS_{fw,eco} is derived by applying an assessment factor of 100 to the lowest L(E)C50. According to TGD-EQS, if no data for an additional marine taxonomic group are available, combined toxicity data are used to derive the MAC-QS_{sw,eco} by applying an additional AF of 10 to the MAC-QS_{fw,eco}.

The lowest acute toxicity concentrations for PFBA, PFPeA and PFHxA were obtained for the bioluminescence inhibition of the *Photobacterium phosphoreum* [7]. However this study was considered not reliable and excluded because its documentation is lacking. Furthermore there is no international agreement upon these methods and, on the consequence, these data would not be acceptable for use in ECHA dossiers.

From the reliable dataset for PFBA, the study on the freshwater invertebrate *Brachionus calyciflorus* (24 h LC50: 110 mg L⁻¹) [8] has been chosen as the key driving study for MAC-QS setting. The SD of the log transformed acute toxicity data is >0.5. By applying an AF of 100 to the lowest acute effect concentration of 110 mg L⁻¹ an MAC-QS for the freshwater environment of 1.1 mg L⁻¹ is derived (Table 5). Because no data for an additional marine taxonomic group are available, an MAC-QS_{sw,eco} for the marine environment of 0.110 mg L⁻¹ is derived (Table 5).

For PFPeA the SD of the log transformed acute toxicity data is <0.5. The study on the freshwater fish *Pimephales promelas* [9] is considered reliable without restriction and the 96 h LC50 (31.8 mg L⁻¹) is used to derive the MAC-QS by applying an AF of 10, obtaining a MAC-QS for the freshwater environment of 3.18 mg L⁻¹

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

8

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

Table 4

PFOA and PFBS chronic aquatic toxicity (The full dataset is available in Table SM8, with references in SM10).

	Species	Exp time	Endpoint	EC10 (95% CI) mg L ⁻¹	NOEC mg L ⁻¹	References
Freshwater						
PFOA						
Algae	<i>Pseudochirchneriella subcapitata</i>	72 h	growth rate and biomass		200	[47]
		96 h			12.5	
	<i>Pseudochirchneriella subcapitata</i>	72 h	growth rate and biomass		200	[11]
		96 h			12.5	
	<i>Pseudochirchneriella subcapitata</i>	4.5 h	photosynthesis		413.06	[49]
Aquatic Plant	<i>Myriophyllum spicatum</i>	35 d	growth (plant length)	31.5 (0–68.2)	23.9	[60]
			root number	10.2 (6.6–13.7)	23.9	
			root length	8.8 (5.9–11.7)	23.9	
			longest root	24.3 (0–56.7)	23.9	
			node number	8.3 (5.3–11.4)	23.9	
			biomass (wet mass)	22.8 (0–53.5)	74.1	
			biomass (dry mass)	19.7 (0–53.5)	74.1	
	<i>Myriophyllum sibiricum</i>	35 d	growth (plant length)	23.7 (5.3–42.1)	23.9	[60]
			root number	29.2 (0–69.2)	23.9	
			root length	24.8 (0–64.1)	23.9	
			longest root	30.0 (0–90.6)	23.9	
			node number	7.8 (6.0–9.7)	23.9	
			biomass (wet mass)	21.6 (0–59.07)	23.9	
			biomass (dry mass)	24.7 (0–340.7)	23.9	
Invertebrata: Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	21 d	reproduction		NR	[47]
			growth (as length)		44.2	
	<i>Daphnia magna</i>	21 d	reproduction		12.5	[52]
	<i>Moina macrocopa</i>	7 d	reproduction		3.125	[52]
	<i>Daphnia magna</i>	21 d	survival		>100	[61]
			reproduction		10	
	<i>Daphnia magna</i>	21 d	reproduction		20	[11]
			growth (as length)		44.2	
	<i>Daphnia magna</i>	21 d	reproduction rate		22	[11]
		14 d	reproduction		8	
			survival		60	
	<i>Daphnia magna</i>	21 d	survival	11.12		[50]
			reproduction	7.02		
Vertebrata: Amphibia	<i>Bufo gargarizans</i>	30 d	survival	5.89		[50]
Vertebrata: Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	85 d	mortality		40 ^c	[49]
	(rainbow trout) ^{a,b}					
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	85 d	mortality and growth (length)		40 ^c	[11]
	(rainbow trout) ^{a,b}					
	<i>Pimephales promelas</i>	39 d	survival		>74.1 ^d	[11]
			time for first oviposition		50 ^d	
			male plasma 11-ketotestosterone and testosterone		0.3 ^d	
	<i>Pimephales promelas</i> ^e	30 d	hatchability, survival growth and histopathology		>100	[11]
	<i>Pseudorasbora parva</i>	30 d	survival	11.78		[50]
PFBS						
Algae	<i>Pseudochirchneriella subcapitata</i>	96 h	growth inhibition		1077	[10]
			biomass		1077	
Invertebrata: Crustacea	<i>Daphnia magna</i>	21 d	reproduction/length		502	[10]
Marine water						
PFOA						
Algae	<i>Isochrysis galbana</i>	72 h	growth inhibition	41.6 (25.9–66.6)	25	[59]

Notes:

^a embryos.^b larvae and juveniles.^c for all life stages.^d real concentrations applied to mesocosm.^e eggs and fry.

(Table 5). Because no data for an additional marine taxonomic group are available, a MAC-QS_{SW,eco} for the marine environment of 0.318 mg L⁻¹ is derived (Table 5).

The lowest acute toxicity concentration is 140 mg L⁻¹ (24 h LC50, *Brachionus calyciflorus*, [8]). The toxicity studies reported by [9] for PFHxA were not sufficiently documented and the toxicity values, which are maximum effect concentrations, cannot be used for QS derivation. Because three major taxonomic groups –Cyanobacteria, algae, and Rotifera–, but only two trophic levels are available, it is not possible to derive a consistent quality standard.

The lowest acute toxicity value for PFBS (96 h EC50 = 372 mg L⁻¹) has been obtained for the crustacean *Mysidopsis bahia* [10] and the study has been considered reliable without restriction. The SD of

the log transformed acute toxicity data is >0.5. By applying an AF of 100 to the lowest acute effect concentration an MAC-QS for the freshwater environment of 3.72 mg L⁻¹ is derived (Table 5). *Mysidopsis bahia* is the only marine species represented in the data-set, since the *Vibrio* test is regarded as unreliable. In this situation the combined toxicity data can be used to derive the QS_{SW,eco} and an additional factor of 10 is applied for saltwater, giving an MAC-QS for the marine environment of 0.372 mg L⁻¹ (Table 5).

3.2.3. AA-QS_{water,eco} for PFOA

Long term toxicological data are available for five taxonomic groups including algae, plant, crustaceans, fish and amphibians together with a mesocosm study [11] (Table 4). No toxicological

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

9

Table 5
Relevant studies used to derive QSs for the different protection objectives. fw = freshwater; sw = saltwater; marine, coastal and transitional waters).

	Relevant study for derivation	AF	QS _{biota}	BCF	BMF	QS _{water}	Reference
PFOA MAC-EQS	HCS of the LC(E)50 SSD function: 22.2 mg L ⁻¹	5 (fw)				2220 µg L ⁻¹ (fw)	
AA-QS	mesocosm study on <i>Pimephales promelas</i> (39d); NOEC: 0.3 mg L ⁻¹	50 (sw) 10 (fw)				450 µg L ⁻¹ (sw) 30 µg L ⁻¹ (fw)	[11]
QS _{biota,secpis}	LOAEL (mice): 0.01 mg kg ⁻¹ bw d ⁻¹ bw/DFI: 8.3 kg _{bw} d kg ⁻¹ NOEC: 0.083 mg kg ⁻¹	100 (sw) 90	0.9 µg kg ⁻¹ fw,biota,sw	9.4 L kg ⁻¹	BMF1: 1 BMF2: 5	3 µg L ⁻¹ (sw) 0.1 µg L ⁻¹ (QS _{fw,biota,secpis})	[24–26]
QS _{biota,hb}	BMDL10 (rats and mice): 0.3 mg kg ⁻¹ bw d ⁻¹	200	0.18 µg kg ⁻¹ sw,biota,sw	9.4 L kg ⁻¹	BMF1: 1 BMF2: 5	0.02 µg L ⁻¹ (QS _{sw,biota,secpis}) 9.7 µg L ⁻¹ (QS _{fw,biota,hb}) 1.9 µg L ⁻¹ (QS _{sw,biota,hb})	[22,37]
PFBA MAC-EQS	<i>Brachionus calyciflorus</i> 24 h LC50: 110 mg L ⁻¹	TDI: 1.5 µg kg ⁻¹ bw d ⁻¹ 100 (fw)				1100 µg L ⁻¹ (fw)	[8]
AA-QS	<i>Brachionus calyciflorus</i> 24 h LC50: 110 mg L ⁻¹	1000 (sw) 1000 (fw) 10000 (sw)				110 µg L ⁻¹ (sw) 110 µg L ⁻¹ (fw) 11 µg L ⁻¹ (sw)	[8]
QS _{biota,secpis}	NOAEL (rat): 6 mg kg ⁻¹ bw d ⁻¹ bw/DFI: 10 kg _{bw} d kg ⁻¹ NOEC: 60 mg kg ⁻¹	300	200 ^a µg kg ⁻¹ biota,sw				[32]
PFPeA MAC-EQS	<i>Pimephales promelas</i> 96 h LC50: 31.8 mg L ⁻¹	10 (fw)				3180 µg L ⁻¹ (fw)	[9]
AA-QS	<i>Pimephales promelas</i> 96 h LC50: 31.8 mg L ⁻¹	100 (sw) 1000 (fw) 10000 (sw)				318 µg L ⁻¹ (sw) 32 µg L ⁻¹ (fw) 3.2 µg L ⁻¹ (sw)	[9]
PFHxA QS _{biota,secpis}	NOAEL (rat): 20 mg kg ⁻¹ bw d ⁻¹ bw/DFI: 20 kg _{bw} d kg ⁻¹ NOEC: 400 mg kg ⁻¹	90	4444 ^a µg kg ⁻¹ biota,sw				[33]
PFBS MAC-EQS	<i>Myxidopsis bahia</i> 96 h EC50: 372 mg L ⁻¹	100 (fw)				3720 µg L ⁻¹ (fw)	[10]
AA-QS	<i>Myxidopsis bahia</i> 96 h EC50: 372 mg L ⁻¹	1000 (sw) 1000 (fw) 10000 (sw)				372 µg L ⁻¹ (sw) 372 µg L ⁻¹ (fw) 37 µg L ⁻¹ (sw)	[10]
QS _{biota,secpis}	NOAEL (rat): 60 mg kg ⁻¹ bw d ⁻¹ bw/DFI: 20 kg _{bw} d kg ⁻¹ NOEC: 1200 mg kg ⁻¹	90	13333 ^a µg kg ⁻¹ biota,sw				[34]

^a Just as Quality Criteria (QC).

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

10

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

data of saltwater aquatic organisms are available, therefore the hazard assessment is based on the freshwater toxicological data. Although chronic data are available for a number of species, the range of taxonomic groups covered is insufficient to enable the use of SSD, and the assessment factor approach is therefore used to derive the AA-QS.

The most sensitive species in acute tests (the marine fish *Psetta maxima*) has not an L(E)C50 value lower than the lowest long term value (e.g. EC10 or NOEC) and long-term toxicity data for species from three trophic levels of the base set (algae, crustacean and fish) are available. In such a case an assessment factor of 10 is applied to the lowest long-term concentration (TGD-EQS).

The lowest chronic toxicological value, from the long-term toxicity dataset, has been reported for a mesocosm study on fish *Pimephales promelas* (39d NOEC 0.3 mg L⁻¹) [11]. When there is only a single model ecosystem study, as in this case, an assessment factor of 5 is recommended (TGD-EQS). Moreover as effects are seen on male plasma concentrations, and it is uncertain which might be the effect on population, a AF of 2 was further applied. Applying the resulting AF of 10 to the NOEC of 0.3 mg L⁻¹, an AA-QS for the freshwater environment of 0.030 mg L⁻¹ is obtained (Table 5).

According to TGD-EQS, no additional chronic toxicological data for saltwater aquatic organisms are available and therefore the QS_{sw,eco} can be derived by using the freshwater toxicological data with an extra assessment factor of 10 (TGD-EQS), obtaining an AA-QS for the saltwater environment of 0.003 mg L⁻¹ (Table 5).

3.2.4. AA-QS_{water, eco} for SC-PFAA

When only short-term toxicity data are available for at least algae, invertebrates and fish, as in the case of PFBA and PFPeA, an assessment factor of 1000 is applied to the lowest L(E)C50 value of the relevant data (TGD-EQS). The relevant L(E)C50 values are the same as those used to derive MAC-QS (Table 2) and the application of a AF = 1000 results in the following AA-QS_{fw,eco}: 0.11 mg L⁻¹ for PFBA and 0.32 mg L⁻¹ for PFPeA in freshwater (Table 5). Because insufficient data are available for additional marine taxonomic groups, an additional factor of 10 is applied, giving an AA-QS_{sw,eco} of 0.011 mg L⁻¹ for PFBA, of 0.032 mg L⁻¹ for PFPeA and 0.14 mg L⁻¹ for PFHxA in saltwater environments (Table 5). For PFHxA insufficient data cannot support a robust standard derivation.

In the case of PFBS, one chronic toxicity value is available in a study on reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna* [10] (Table 4). However the algal growth inhibition test of the acute base set (Table 3) is, in principle, a multigeneration test and the NOEC from this test may be used as an additional NOEC to support long term NOECs of species of a further trophic level (TGD-EQS). Including the NOEC for the study on algae inhibition, the log-term toxicity dataset for PFBS comprises two taxonomic groups (algae and crustacean) and the lowest reliable chronic toxicity study from the available dataset for PFBS is a reproduction study on the freshwater invertebrate *Daphnia magna* (21d NOEC 502 mg L⁻¹) [10]. But this NOEC is higher than the lowest acute effect concentration (96 h EC50 372 mg L⁻¹ for *Mysidopsis bahia*) [10]. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest L(E)C50 of the short-term tests: the derived AA-QS_{water,eco} would result equal to the calculated MAC-QS_{water,eco}, so an AF of 1000 is preferred (TGD-EQS). By applying the latter AF to EC50 of 372 mg L⁻¹ for *Mysidopsis bahia*, an AA-QS for the freshwater environment of 0.372 mg L⁻¹ is derived (Table 5). No long-term toxicity data is available for additional marine taxonomic group and therefore an additional factor of 10 is applied, giving an AA-QS_{sw,eco} of 0.037 mg L⁻¹ (Table 5).

3.3. Derivation of QS to protect benthic (sediment dwelling) species

According to TGD-EQS, the general criteria for triggering the development of a QS_{sediment} include log *K*_{oc} and log *K*_{ow} properties, toxicity to benthic organisms and evidence of accumulation in sediment.

As many perfluorocarboxylic acids are hydrophobic and lipophobic at the same time, they tend to form three immiscible layers when they are added to an octanol-water system. Thus, it is impossible to directly determine their *K*_{ow} values using 'regular' methods that are common for organic chemicals [12]. Experimental *K*_{ow} and *K*_{oc} data for perfluorocarboxylic acids are therefore scarce [13] and values should have to be calculated by models, even if none of them (e.g., EPISuite) have training sets that include this class of substances. Furthermore, the concept of *K*_{ow} for PFAA has essentially no meaning or use in an environmental context since in the range of relevant environmental pH values most of the PFAAs will exist as the dissociated anion and not the neutral form of the substance.

No data on the toxicity of any PFAA on sediment dwelling organisms are available and therefore it is not possible to determine whether any PFAA has a toxic impact on benthic organisms.

The final criterion relates to evidence of accumulation in sediments. *K*_{sed-water} values of all compounds of interest are lower than those measured for legacy POPs such as chlorinated pesticides and are very variable depending on the sediment characteristics (SM1–SM5). Also concentrations data on sediment are very variable depending on the environment, the sediment characteristics and the site-specific pollutant pressures.

3.3.1. QS_{sediment} PFOA

Experimental *K*_{ow} data for PFOA are reported in [13]. Log *K*_{ow}s for PFOA, ranging from 4.30 to 6.30 [7,14,15], fulfil the criteria for triggering a QS_{sediment} according to TGD-EQS. Reported log *K*_{oc} values range from 1.9 to 4. The upper limit value, which overcomes the threshold of 3 recommended by the TGD-EQS, has been obtained in a bank filtration experiment with a sandy sediment which is not really representative of the river bed sediment. Nevertheless the use of log *K*_{oc} as the key parameter of the adsorption mechanism could not be valid for this substance: in fact the sorption of PFOA at near neutral pH is controlled by the electrostatic sorption on ferric oxide minerals, and not by the sorption to organic carbon [16].

From PFOA dossier (SM1), maximum concentration (7 ng g⁻¹ dw) in European freshwater sediments was measured downstream a fluoropolymer plant. Transitional sediments reached 48 ng g⁻¹ dw in some estuarial zones, but freshwater and coastal sediments were generally <1 ng g⁻¹ dw. From these data we can conclude that the accumulation of PFOA in sediment is limited. Nevertheless, based on the above it is felt that insufficient information is available to support a decision to derive a QS_{sediment} for PFOA.

3.3.2. QS_{sediment} SC-PFAA

The criteria for triggering a QS_{sediment} (log *K*_{ow} >3) is only partially fulfilled for the SC-PFAA under study. Experimental and modelled log *K*_{ow}s are variable and range from -0.52 to 2.82 for PFBA, from 0.09 to 3.43 for PFPeA, from 0.70 to 4.37 for PFHxA and from 2.41 to 3.90 for PFBS [7,14,15]. Log *K*_{oc}s, calculated by EPISuite, are 1.8 for PFBA, 2.4 for PFPeA, 3.1 for PFHxA, and 2.3 for PFBS, while experimental log *K*_{oc}s are generally <3, a part from some out of range values derived in a single field experiment [17]. Limited accumulation has been measured in freshwater and coastal sediments (0.1–61.2 ng g⁻¹ dw for PFBA, <1 ng g⁻¹ dw for PFPeA and PFHxA and <1 to 3.5 ng g⁻¹ dw), except in a very impacted Chinese lake [18]. Field measured *K*_{sed-water} values are too variable (0.004–214 for PFBA, 0.04–251 for PFPeA, 0.66–316 for PFHxA and

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

11

0.07–759 for PFBS), depending on the sediment characteristics, to infer a definitive conclusion on those compounds.

Based on the above data we can conclude that for PFBA, PFPeA and PFBS there is no need for a QS_{sediment} , while for PFHxA the need for a QS_{sediment} is uncertain but insufficient data are anyway available to derive such a threshold.

3.4. Derivation of QS for secondary poisoning ($QS_{\text{biota,secpois}}$)

The derivation of a biota standard for the protection of predators from secondary poisoning is triggered by the possibility of accumulation in the food chain in conjunction with hazard properties of the chemical of interest. A biomagnification factor (BMF) >1 or a bioconcentration factor (BCF) $\geq 100 \text{ L kg}^{-1}$ is used as indicators of the bioaccumulation potential (TGD-EQS). However, these criteria apply to lipophilic, hydrophobic substances. But perfluorinated compounds do not actually behave as lipophilic compounds that accumulate in fat tissues and this approach should be considered precautionary.

According to TGD-EQS the biota-based QS for secondary poisoning is calculated separately for the freshwater and saltwater environment. The $QS_{\text{biota,secpois,fw}}$ is derived using the lowest toxicity value for birds or mammals ($TOX_{\text{oral}} = \text{NOEC}$) with the appropriate assessment factor, while for the $QS_{\text{biota,secpois,sw}}$ the toxicity value should also be divided by the appropriate biomagnification factor (BMF2) to account for an additional trophic level. In some cases, such as e.g. to compare it with other water column standards, select the overall EQS, or fit in with national monitoring regimes that use only water sampling, it can be important to convert the biota standard ($\mu\text{g kg}^{-1}_{\text{diet}}$) into a water column concentration standard by the application of the appropriate BCF and BMF1 (TGD-EQS).

3.4.1. $QS_{\text{biota,secpois}}$ PFOA

Few BCF values are available for PFOA; they have been estimated both for specific fish organs/tissues, such as e.g. blood, liver, and for the whole organism in the case of fish and bivalves. BCFs for whole organisms are $<10 \text{ L kg}^{-1}$. Indeed the highest BCF for whole fish ($9.4 \text{ L kg}^{-1}_{\text{ww}}$) was calculated for common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to PFOA in a bioconcentration test according to OECD test guideline 305 in a flow-through fish test [19]. Additionally BMF <1 were reported for PFOA in freshwater fish in laboratory and field biomagnification studies and few and highly variable BMF values were calculated for fish predators in seawater food web (0.6, 7.2 and 31) (SM1). Therefore the numeric criterion as suggested for derivation of a $QS_{\text{biota,secpois}}$ is not fulfilled for PFOA. However, PFOA concentrations are generally high in target tissues such as blood or liver (e.g. up to $870 \mu\text{g L}^{-1}$ in turtle serum and 84.63 ng g^{-1} in eel liver). Due to its notable water solubility, PFOA is probably quickly excreted via gill permeation and indeed field studies showed that air-breathing organisms are more likely to biomagnify PFOA than the water breathing organisms [20]. Based on the above considerations PFOA has been classified bioaccumulative under REACH by unanimous agreement between EU Member States in July 2013 [21] and, consequently, a secondary poisoning assessment for PFOA was carried out.

The available toxicity data for PFOA were collated and reviewed by a number of organizations, such as Organisation for European Economic Co-operation (OECD) [11], European Food Safety Authority (EFSA) [22] and Environment Canada [23]. Toxicological studies with PFOA include subchronic, developmental/reproductive, and chronic toxicity/carcinogenicity tests in several animal species, in both sexes. Mammalian and avian toxicity studies are reported in Material Table SM9 (references in SM10). Both LOAEL and NOAEL values are tabulated. Three studies in mice showed the highest sensitivity for PFOA, all reporting LOAEL values of $0.01 \text{ mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{ d}^{-1}$

[24,25]. Hines et al. [24] administered APFO to CD-1 mice for 17 d of pregnancy. The lowest exposure level ($0.01 \text{ mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{ d}^{-1}$) significantly increased body weight and serum insulin and leptin in mid-life after developmental exposure. To investigate the low-dose effects of PFOA on offspring, timed-pregnant CD-1 mice were gavaged dosed with APFO for half of gestation [25]. At postnatal d 21 the lowest dose at which mammary gland developmental abnormalities were visible in the pups was $0.01 \text{ mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Absolute and relative uterine weights were significantly increased in female offspring of CD-1 dams gavaged dosed with $0.01 \text{ mg APFO kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ from postnatal d 18 to 20 [26].

The LOAEL of $0.01 \text{ mg kg}_{\text{bw}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ is therefore used as the basis for the derivation of the $QS_{\text{biota,secpois}}$ for PFOA. It is converted, using the conversion factor (bw/DFI) of $8.3 \text{ kg}_{\text{bw}} \text{ d kg}^{-1}$ taken from the REACH guidance and included in the TGD-EQS [1], to a no observed effect concentration (NOEC) of 0.083 mg kg^{-1} . Because the selected NOEC value was reported in developmental studies a value of 90 is selected as appropriate assessment factors (AF_{oral}) for the extrapolation of mammalian toxicity data into $QS_{\text{biota,secpois}}$ (TGD-EQS).

All available BMFs, collected in wide reviews on PFOA [20], [27,28], are below 1 (0.02–0.63) both in laboratory and field biomagnification studies. However, there are evidences that bioaccumulation in field can occur both in freshwater fish and in organisms at lower trophic levels (BAF ranging from 0.9 to 1585 L kg^{-1} ; median 14.0 L kg^{-1} , SM1), suggesting that also the diet contributes to the PFOA accumulation in organisms. Therefore an upper limit value of 1 for BMF1 is chosen.

Few and highly variable BMFs were calculated for fish predators in seawater food web (0.6, 7.2 and 31). However clear biomagnification of PFOA was shown for bottlenose dolphins and polar bears ([20] and references herein). Because of the uncertainties associated with the data available in relation to BMF2 and the frequent detection of PFOA in top predators of seawater food web, a value of 5 is proposed for BMF2.

Concluding, to derive QS based on secondary poisoning of predators in freshwater or saltwater compartments, a TOX_{oral} value of 0.083 mg kg^{-1} , an AF_{oral} value of 90 and a BMF2 value of 5 are used according to TGD-EQS (Eqs. 1 and 2 of SM10). The obtained $QS_{\text{biota,secpois}}$ are 0.9 and $0.18 \mu\text{g kg}^{-1}_{\text{biota,sw}}$ for fresh- and saltwater respectively (Table 5). These biota standards are converted into an equivalent water concentration using the highest BCF ($9.4 \text{ L kg}^{-1}_{\text{ww}}$) found in literature and a BMF1 of 1 according to TGD-EQS (Eqs. 3 and 4 of SM10). This gives a $QS_{\text{fw,secpois}}$ of $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ and a $QS_{\text{sw,secpois}}$ of $0.02 \mu\text{g L}^{-1}$ (Table 5).

3.4.2. $QS_{\text{biota,secpois}}$ SC-PFAA

The BCF modelled for all examined SC-PFAAs are $<10 \text{ L kg}^{-1}$ (3.162 L kg^{-1} ; BCFWIN v2.17, EPI Suite) and the few field BAF values are, generally, $<10 \text{ L kg}^{-1}$ (SM2–SM5).

No BCF, BMF1 and BMF2 from laboratory and field studies are available for PFBA. In the case of PFPeA the BCF calculated in a laboratory study with rainbow trout [29] is insignificant and the single BMF value extrapolated with the same species is <0.1 [30]. Concentrations in biota are generally low, ranging from <LOQ to less than $10 \text{ ng g}^{-1}_{\text{ww}}$. Maximum concentrations of $7.62 \text{ ng g}^{-1}_{\text{ww}}$ for PFBA and $9.69 \text{ ng g}^{-1}_{\text{ww}}$ for PFPeA were measured in duckweed and in freshwater fish respectively [17,18].

Also for PFHxA and PFBS the BCF calculated in laboratory studies (rainbow trout for PFHxA [29] and Bluegill sunfish [10]) are $<1 \text{ L kg}^{-1}$ and the BMFs calculated for PFHxA and PFBS for rainbow trout are <1 [29]. Furthermore monitoring data evidence that occurrence of PFBS and PFHxA in biota is limited with concentrations generally <LOQ and maximum concentrations of 10.8 and $31.4 \text{ ng g}^{-1}_{\text{ww}}$ respectively [18,31]. Nevertheless the few bioaccumulation data available are highly variable with BAF values ranging from 5.0 to 9 L kg^{-1} , 120 L kg^{-1} measured in freshwater snails for

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

12

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

PFHxA [31] and from 0.3 to 1736 L kg⁻¹ in a freshwater fish for PFBS [17].

Based on the above evidences, PFBA and PFPeA can be considered not bioaccumulable or biomagnifiable in the aquatic food web, whereas there is still uncertainty on the bioaccumulation and biomagnification characteristics of PFHxA and PFBS which requires further monitoring data. As a result the requirements to derive $QS_{biota,secpois}$ are not met for these compounds.

Few toxicity studies on mammalian diet and oral exposure are reported for PFBA, PFHxA and PFBS while only one toxicity study for PFPeA has been retrieved (Tables SM9, with references in SM10). Though the number of studies is anyway insufficient to derive a reliable $QS_{biota,secpois}$, we used the lowest NOAEL/LOAEL available to derive Quality Criteria (QC) for freshwater compartment for PFBA, PFHxA and PFBS in order to derive information on the hazard for top predators.

Oral toxicity studies in male rats with ammonium perfluorobutanoate (NH₄+PFBA) showed effects in males such as increased liver weight, slight to minimal hepatocellular hypertrophy; decreased serum total cholesterol; and reduced serum thyroxine with no change in serum thyrotropin [32]. NOAELs were 6 mg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ for male both in the 28-d and in the 90-d study. This lowest reported NOAEL is converted to an NOEC_{oral} using a bw/DFI of 10 kg_{bw} d kg⁻¹ (TGD-EQS). For this short-term test an AF_{oral} of 300 has been applied (TGD-EQS) resulting in a QC_{biota,secpois,fw} for PFBA of 200 µg kg⁻¹ biotaww (Table 5).

The lowest NOAEL for PFHxA was measured by Loveless et al. [33] in 90-d subchronic toxicity studies with rats. In the study sodium perfluorohexanoate was administered daily to male Crl:CD(SD) rats for approximately 90 d by gavage. The NOAEL was 20 mg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ based on nasal lesions. This NOAEL for rat is converted by a bw/DFI of 20 kg_{bw} d kg⁻¹ (TGD-EQS), giving a NOEC_{oral} of 400 mg kg⁻¹. A QC_{biota,secpois,fw} of 4444 µg kg⁻¹ biotaww is derived by applying an AF_{oral} of 90 to this NOEC_{oral} (Table 5).

For PFBS similar NOAEL were calculated in subchronic and reproductive studies. A NOAEL of 60 mg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ based on hematological effects [34] was calculated in a 90-d rat oral gavage study and a NOAEL of 100 mg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ was extrapolated in P and F1 generation based on general toxicity (increased liver weight, microscopic changes in liver and kidney) [10,35]. A NOEC_{oral} of 1200 mg kg⁻¹ is calculated by applying a bw/DFI of 20 kg_{bw} d kg⁻¹ for rats to the lowest reported NOAEL of 60 mg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹. An AF_{oral} of 90 has been applied to this NOEC_{oral}, resulting in a QC_{biota,secpois,fw} of 13,333 µg kg⁻¹ biotaww (Table 5).

3.5. Derivation of QS to protect human health

For humans, the derivation of a biota standard is triggered by the hazardous properties of the chemical of interest. Effects on reproduction, fertility and development are of particular concern since these are long-term effects which could impact on organism populations. Acceptable daily intake (ADI) or tolerable daily intake (TDI) or available mammalian toxicology data are used to assess possible risks to humans.

3.5.1. Human health via consumption of fishery products ($QS_{biota,hh}$)

PFOA has been recently classified as a known or suspected carcinogen (R40) and as a substance known or suspected to affect reproduction (R61) [36], so PFOA meets the criteria to derive QSs to protect human health.

A tolerable daily intake (TDI) of 1.5 µg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ was proposed by EFSA [22]. The TDI was determined by applying an uncertainty factor of 200 to the BMDL10 of 300 µg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹ [37]. The chosen

BMDL10 is the lowest one among a number of studies in mice and male rats looking at the effects on the liver. The overall uncertainty factor of 200 is obtained by multiplying a factor of 100, which takes into account the inter and intra-species differences, with an additional factor of 2, which compensates for uncertainties relating to the internal dose kinetics.

The EFSA's TDI is chosen as human relevant threshold level (TL_{hh}) for PFOA and the $QS_{biota,hh}$ of 91 µg kg⁻¹ biotaww is calculated (Table 5) using equation 5 reported in SM10. To set the overall EQS, this biota standard is converted to the equivalent water concentration applying a BCF of 9.4 L kg⁻¹ and the BMF1 and BMF2 values of 1 and 5, respectively, as discussed above. Inserting these values in equations 6 and 7 reported in SM10, $QS_{fw,hh}$ of 9.7 µg L⁻¹ and $QS_{sw,hh}$ of 1.9 µg L⁻¹ are derived (Table 5).

No ADI or TDI is available for the other SC-PFAAs and very few toxicity studies on mammalian diet and oral exposure, reporting LOAEL and NOAEL, are available (Tables SM9, with references in SM10). Thereby, at the current state of knowledge, there are insufficient toxicological data to classify SC-PFAAs and derive a $QS_{biota,hh}$ according to the TGD-EQS criteria.

3.5.2. Human health via consumption of drinking water ($QS_{dw,hh}$)

In addition to potential exposure through the consumption of fishery products, a second route for human exposure to substances in water is through drinking water. In principle, existing drinking water standards are adopted, e.g. EU, World Health Organization (WHO) drinking water standards. A treatment factor should be applied to the drinking water standard so that the $QS_{dw,hh}$ relates to the 'raw' water (i.e. it is an 'environmental' standard), before the treatment step. However, since the removal efficiency of the current techniques employed in the drinking water production is generally low and uncertain in the cases of PFOA and SC-PFAA [38], the proposed drinking water standards (QS_{dw}) are considered appropriate for setting $QS_{dw,hh}$ without further correction.

Though thresholds for PFOA and SC-PFAAs in drinking water have been proposed by some countries, no thresholds have been derived by either EU or WHO. Under these circumstances the TGD-EQS notes that a provisional drinking water standard should be derived using ADI, TDI or the lowest available mammalian toxicology data and Eq. 8 of SM10. TDI (1.5 µg kg_{bw}⁻¹ d⁻¹), proposed by EFSA [22], is available only for PFOA and by choosing it as TL_{hh} a QS_{dw} of 5.25 µg L⁻¹ is derived. However, because the long term minimum quality goal proposed by Italian Institute of Health (0.5 µg L⁻¹) [39] is lower than that one calculated from TDI, QS_{dw} , 0.5 µg L⁻¹ is then used as $QS_{dw,hh}$ for PFOA.

For the other SC-PFAAs no ADI or TDI are available and few toxicity studies on mammalian diet and oral exposure are reported (Tables SM9, with references in SM10). At the current state of knowledge, toxicological data are insufficient to derive a standard for drinking water and we used the lowest available national thresholds as the value for $QS_{dw,hh}$.

For PFBA, thresholds in drinking water have been proposed by Germany [40,41] and State of Minnesota, USA [42]. The latter state established a threshold for groundwater of 7 µg L⁻¹ as short-term, chronic and sub-chronic Non-Cancer Health Risk Limits and Germany stated a health-related indication value of 7 µg L⁻¹ which is used as $QS_{dw,hh}$. For the remaining compounds, the minimum health-related indication values proposed by Germany [41], 3 µg L⁻¹ for PFPeA, 1 µg L⁻¹ for PFHxA and 3 µg L⁻¹ for PFBS, have been set as $QS_{dw,hh}$.

Table 6

Summary of the derived QSs for the different protection objectives. fw = freshwater; sw = saltwater (marine, coastal and transitional waters).

Protection objective	Unit	PFOA	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFBS
AA-QS _{fw,eco} Pelagic community (fw)	[$\mu\text{g L}^{-1}$]	30	110	32	insufficient data	372
AA-QS _{sw,eco} Pelagic community (sw)	[$\mu\text{g L}^{-1}$]	3	11	3.2	insufficient data	37
QS _{sed,fw} Benthic community (fw)	[$\mu\text{g kg}^{-1}$ dw]	insufficient data	not required	not required	insufficient data	not required
QS _{sed,sw} Benthic community (sw)	[$\mu\text{g kg}^{-1}$ dw]	insufficient data	not required	not required	insufficient data	not required
QS _{biota,secpois} Predators (secondary poisoning)	[$\mu\text{g kg}^{-1}$ biotaww]	0.9	not required	not required	not possible to assess if bioaccumulable	not possible to assess if bioaccumulable
	[$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.1 (fw) 0.02 (sw)	–	–	–	–
QS _{biota,hh} Human health via consumption of fishery products	[$\mu\text{g kg}^{-1}$ biotaww]	91	insufficient data	insufficient data	insufficient data	insufficient data
	[$\mu\text{g L}^{-1}$]	9.7 (fw) 1.9 (sw)	–	–	–	–
QS _{dw,hh} Human health via consumption of water	[$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.5	7	3	1	3

4. Conclusions: selecting an overall environmental quality standard and environmental risk assessment

QS for water, sediment and biota are derived in the present study for the different protection goals for each examined PFAS are summarised in Table 6.

QS_{fw,eco} derived from acute and chronic ecotoxicological studies range from 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PFOA to 372 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PFBS. Even if, in some cases QS_{water,eco} are based on a limited dataset which should be integrated with further studies, nevertheless we may conclude that examined PFAAs have limited toxicity for freshwater and marine organisms.

For compounds with carbon chain <C6 it is not possible to derive a QS for sediments because they do not accumulate in sediment and data are lacking. In other cases ($\geq\text{C6}$) it is not possible deriving sediment EQS because data on toxicity on benthic community are lacking.

QS_{biota,secpois} for protection of predators from secondary poisoning have been derived only for PFOA (0.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ww) and PFBS (13,333 $\mu\text{g g}^{-1}$ ww), while for PFBA and PFHxA only quality criteria values have been calculated, because of the data lacking. It was possible to derive a QS_{biota,hh} for the protection of human health via consumption of fishery products only for PFOA, but the derived value (91 $\mu\text{g g}^{-1}$ ww) was 100-fold higher than QS_{biota,secpois}. All the QS_{biota} for PFOA have then been back-calculated to water obtaining quality standards expressed in water concentrations.

According to the TGD-EQS, the lowest QS calculated for the different objectives of protection will normally be adopted as the overall quality standard (EQS) for the different aquatic compartments.

For all the compounds, except PFOA, QS_{dw,hh}, derived from the drinking water threshold values, are the lowest QS (Table 6). In this case, TGD-EQS warns that QS_{dw,hh} can be adopted as the lowest QS_{water} only for water bodies intended for drinking water use. Italian government decided to adopt QS_{dw,hh} as national overall EQS because most of the water bodies impacted by PFAA pollution are intended for human consumption.

For PFOA the most stringent QS is that related to the protection of predators from secondary poisoning (0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ for freshwater and 0.02 $\mu\text{g L}^{-1}$ for saltwater) and it is adopted as EQS (Table 7).

In order to assess the risk connected with the presence of these compounds in the aquatic environment, quality standards may be compared with the occurrence levels, which are collected in the substance dossiers (SM1–SM5).

For all the compounds MAC-EQS are in the order of thousands $\mu\text{g L}^{-1}$ for freshwaters and hundreds $\mu\text{g L}^{-1}$ for saltwaters (Table 7) and these levels never occurred in the natural environments, but have been measured for PFOA and PFBS only in the discharge of a fluorochemical factory [43] (see also SM1 and SM5).

Short chain perfluorocarboxylic acids (PFBA, PFPeA and PFHxA) never reach environmental concentrations comparable to proposed EQSs which are in the order of thousands ng L^{-1} for freshwaters (Table 7, SM2–SM4). In the case of PFBS thousands ng L^{-1} were determined only in an Italian river basin directly impacted by a fluorochemical plant [3,43], but concentrations up to 200–400 ng L^{-1} were sometimes measured in rivers in Northern Europe and China (SM5).

EQS_{fw} for PFOA, based on the protection from secondary poisoning, (100 ng L^{-1}) is a more critical threshold which is more often overcome in many surface water bodies. In Italy, for example, where fluorochemical and fluoropolymer plants are present, 90th percentile of concentrations in 35 rivers was 974 ng L^{-1} , with a median of 22 ng L^{-1} [4], while in 121 European rivers a maximum of 174 ng L^{-1} and a 90th percentile of 26 ng L^{-1} were measured [44]. According to the EQS_{fw}, some rivers in Europe can be at risk for PFOA, while only some transitional environments, such as the lagoons in the Po Delta, presented PFOA concentrations close to the EQS_{sw} (20 ng L^{-1}).

EQS for biota have been derived only for PFOA (900 ng g^{-1} for freshwater and 180 ng g^{-1} for saltwater, Table 7), but these concentrations are much higher than those ever measured in whole body or muscle of any fish or mollusks (SM1). Nevertheless it is to be underlined that these levels were measured in target organs and tissues such as liver and serum (SM1).

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

14

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

Table 7

Summary of the proposed Annual Average–EQS (AA-EQS) and Maximum Acceptable Concentration–EQS (MAC-EQS).

	PFOA	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFBS
AA-EQS _{fw} [freshwater] [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.1	7	3	1	3
AA-EQS _{sw} [marine waters] [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.02	–	–	–	–
AA-EQS _{biota, fw} biota [$\mu\text{g kg}^{-1}$ biota _{fw}]	0.9	–	–	–	–
AA-EQS _{biota, sw} biota [$\mu\text{g kg}^{-1}$ biota _{sw}]	0.18	–	–	–	–
MAC-EQS _{fw} [freshwater] [$\mu\text{g L}^{-1}$]	2220	1100	3200	–	3720
MAC-EQS _{sw} [marine waters] [$\mu\text{g L}^{-1}$]	450	110	320	–	372

In conclusions PFAS with carbon chain $\leq \text{C}_6$, due to their low bioaccumulative potential and low acute and chronic aquatic toxicity, do not seem to be a direct concern for aquatic environment. On the contrary, though PFOA shows a low toxicity, because it biomagnifies in air-breathing organisms and is very persistent, it accumulates in target organs even if it is present at moderate concentrations in water.

Acknowledgements

This paper is based on the outcome of the Italian Working Group for EQS in water, coordinated by IRSA-CNR. The work has been partially funded by the Italian Ministry for the Protection of Environment, Territory and Sea, MATTM (Divisione V) within the project “Valutazione del Rischio Ambientale e Sanitario associato alla contaminazione da sostanze perfluoro-alchiliche (PFAS) nel Bacino del Po e nei principali bacini fluviali italiani”.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.055>.

References

- [1] EC, European Commission Guidance Document No. 27, Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards, Technical Report—2011-055 in 2011.
- [2] S. Castiglioni, S. Valsecchi, S. Polesello, M. Rusconi, M. Melis, M. Palmiotto, A. Manenti, E. Davoli, E. Zuccato, Sources and fate of perfluorinated compounds in the aqueous environment and in drinking water of a highly urbanized and industrialized area in Italy, *J. Hazard. Mater.* 282 (2015) 51–60.
- [3] S. Valsecchi, M. Rusconi, M. Mazzoni, G. Viviano, R. Pagnotta, C. Zaghi, G. Serrini, S. Polesello, Occurrence and sources of perfluoroalkyl acids in Italian river basins, *Chemosphere* 129 (2015) 126–134.
- [4] M. Mazzoni, S. Polesello, M. Rusconi, S. Valsecchi, Investigating the occurrence of C8-based perfluorinated substitutes in Italian waters, *Norman Bulletin*, Issue 4, March 2015.
- [5] H.-J. Klimisch, M. Andreae, U. Tillmann, A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 25 (1997) 1–5.
- [6] USEPA, SSD: Species Sensitivity Distribution Generator V1-12 (downloaded in October 2014) in 2014.
- [7] T. Wang, Z. Lin, D. Yin, D. Tian, Y. Zhang, D. Kong, Hydrophobicity-dependent QSARs to predict the toxicity of perfluorinated carboxylic acids and their mixtures, *Environ. Toxicol. Chem.* 32 (2011) 259–265.
- [8] Y. Wang, J. Niu, L. Zhang, J. Shi, Toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) towards the rotifer *Brachionus calyciflorus*, *Sci. Total Environ.* 491–492 (2014) 266–270.
- [9] R.A. Hoke, L.D. Bouchelle, B.D. Ferrell, R.C. Buck, Comparative acute freshwater hazard assessment and preliminary PNEC development for eight fluorinated acids, *Chemosphere* 87 (2012) 725–733.
- [10] NICNAS, Australian government (Department of health and ageing), Potassium perfluorobutane sulfonate, Existing Chemical Hazard Assessment Report, https://www.nicnas.gov.au/_data/assets/pdf/file/0004/4927/Potassium.Perfluorobutane.Sulfonate.PDF.pdf, 2005.
- [11] OECD, Substance Information Data-Sheet (SIDS), Assessment Profile for Perfluorooctanoic Acid (PFOA), Ammonium Perfluorooctanoate (APFO), 2006.
- [12] J.P. Giesy, J.E. Naile, J.S. Khim, P.D. Jones, J.L. Newsted, Aquatic toxicology of perfluorinated chemicals, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 202 (2010) 1–52.
- [13] G. Ding, W.J.G.M. Peijnenburg, Physicochemical properties and aquatic toxicity of poly- and perfluorinated compounds, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 43 (2013) 598–678.

- [14] H.P.H. Arp, C. Niederee, K.-U. Goss, Predicting the partitioning behavior of various highly fluorinated compounds, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 7298–7304.
- [15] Z. Wang, M. MacLeod, I.T. Cousins, M. Scheringer, K. Hungerbühler, Using COSMOtherm to predict physicochemical properties of poly- and perfluorinated alkyl substances (PFASs), *Environ. Chem.* 8 (2011) 389–398.
- [16] M.L. Ferrey, J.T. Wilson, C. Adair, C. Su, D.D. Fine, X. Liu, J.W. Washington, Behavior and fate of PFOA and PFOS in Sandy aquifer sediment, *Groundwater Monit. Rem.* 32 (2012) 63–71.
- [17] J. Campo, F. Perez, A. Masia, Y. Pico, M. Farre, D. Barcelo, Perfluoroalkyl substance contamination of the llobregat river ecosystem (Mediterranean area NE Spain), *Sci. Total. Environ.* 503–504 (2015) 48–57.
- [18] Z. Zhou, Y. Liang, Y. Shi, L. Xu, Y. Cai, Occurrence and transport of perfluoroalkyl acids (PFAAs), including short-chain PFAAs in Tangxun Lake China, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 9249–9257.
- [19] Y. Inoue, N. Hashizume, N. Yakata, H. Murakami, Y. Suzuki, E. Kikushima, M. Otsuka, Unique physicochemical properties of perfluorinated compounds and their bioconcentration in common carp *Cyprinus carpio* L, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62 (2012) 672–680.
- [20] ECHA, Support Document for Identification of Pentadecafluorooctanoic Acid (PFOA) as a Substance of Very High Concern Because of its CMR¹ and PBT² Properties, Member State Committee, 2013.
- [21] ECHA, Support Document for identification of pentadecafluorooctanoic acid (PFOA) as a substance of very high concern because of its CMR and PBT properties, <http://echa.europa.eu/candidate-list-table/-/substance/305/search/+term>, 2013.
- [22] EFSA, Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts—Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain, *EFSA J.* 653 (2008) 1–131.
- [23] Canada, Environment Health. Draft Screening Assessment Perfluorooctanoic Acid, its Salts, and its Precursors, 2010.
- [24] E.P. Hines, S.S. White, J.P. Stanko, E.A. Gibbs-Flournoy, C. Lau, S.E. Fenton, Phenotypic dichotomy following developmental exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) in female CD-1 mice: low doses induce elevated serum leptin and insulin, and overweight in mid-life, *Mol. Cell. Endocrinol.* 304 (2009) 97–105.
- [25] M.B. Macon, L.R. Villanueva, K. Tatum-Gibbs, R.D. Zehr, M.J. Strynar, J.P. Stanko, S.S. White, L. Helfant, S.E. Fenton, Prenatal perfluorooctanoic acid exposure in CD-1 mice: low-dose developmental effects and internal dosimetry, *Toxicol. Sci.* 122 (2011) 134–145.
- [26] D. Dixon, C.E. Reed, A.B. Moore, E.A. Gibbs-Flournoy, E.P. Hines, E.A. Wallace, J.P. Stanko, Y. Lu, W.N. Jefferson, R.R. Newbold, S.E. Fenton, Histopathologic changes in the uterus, cervix and vagina of immature CD-1 mice exposed to low doses of perfluorooctanoic acid (PFOA) in a uterotrophic assay, *Reprod. Toxicol.* 33 (2012) 506–512.
- [27] USEPA, Revised Draft Hazard Assessment of Perfluorooctanoic Acid and its Salts, Environmental Protection Agency Office of Pollution Prevention and Toxics Risk Assessment Division, 2002.
- [28] Canada, Environment Canada, Health Canada, Screening Assessment Report Perfluorooctanoic Acid, its Salts, and its Precursors, 2012.
- [29] J.W. Martin, S.A. Mabury, K.R. Solomon, D.C. Muir, Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (2003) 196–204.
- [30] J.W. Martin, S.A. Mabury, K.R. Solomon, D.C.G. Muir, Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (2003) 189–195.
- [31] Z. Zhou, Y. Shi, W. Li, L. Xu, Y. Cai, Perfluorinated compounds in surface water and organisms from Baiyangdian Lake in North China: source profiles, bioaccumulation and potential risk, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89 (2012) 519–524.
- [32] J.L. Butenhoff, J.A. Bjork, S.C. Chang, D.J. Ehresman, G.A. Parker, K. Das, C. Lau, P.H. Lieder, F.M. van Otterdijk, K.B. Wallace, Toxicological evaluation of ammonium perfluorobutylate in rats: twenty-eight-day and ninety-day oral gavage studies, *Reprod. Toxicol.* 33 (2012) 513–530.
- [33] S.E. Loveless, B. Slezak, T. Serex, J. Lewis, P. Mukerji, J.C. O'Connor, E.M. Donner, S.R. Frame, S.H. Korzeniowski, R.C. Buck, Toxicological evaluation of sodium perfluorohexanoate, *Toxicology* 264 (2009) 32–44.
- [34] P.H. Lieder, S.C. Chang, R.G. York, J.L. Butenhoff, Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague-Dawley rats, *Toxicology* 255 (2009) 45–52.

Please cite this article in press as: S. Valsecchi, et al., Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids, *J. Hazard. Mater.* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.055>

G Model

HAZMAT-17663; No. of Pages 15

ARTICLE IN PRESS

S. Valsecchi et al. / Journal of Hazardous Materials xxx (2016) xxx–xxx

15

- [35] P.H. Lieder, R.G. York, D.C. Hakes, S.C. Chang, J.L. Butenhoff, A two-generation oral gavage reproduction study with potassium perfluorobutanesulfonate (K+PFBS) in Sprague Dawley rats, *Toxicology* 259 (2009) 33–45.
- [36] ECHA, Opinion proposing harmonised classification and labelling at Community level of Perfluorooctanoic acid (PFOA), European Chemicals Agency, Committee for Risk Assessment, ECHA/RAC/DOC No CLH-O-0000002227-78-01/F, 2011.
- [37] J.L. Butenhoff, G.L. Kennedy Jr., S.R. Frame, J.C. O'Connor, R.G. York, The reproductive toxicology of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the rat, *Toxicology* 196 (2004) 95–116.
- [38] C. Eschauzier, E. Beerendonk, P. Scholte-Veenendaal, P. De Voogt, Impact of treatment processes on the removal of perfluoroalkyl acids from the drinking water production chain, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 1708–1715.
- [39] Veneto-Region, Deliberazione della Giunta Regionale della Regione del Veneto n. 618 del 29 aprile 2014 Approvazione di 'Primi indirizzi operativi per l'utilizzo dei pozzi privati ai Comuni delle Province interessate dalla presenza di sostanze perfluoroalchiliche (PFASs) nelle acque destinate al consumo umano' che prende atto dei livelli di performance indicati dal Ministero della Salute con nota prot. n. 2565-P-DGPRE del 29.01. 2014 e dei limiti fissati dall'EFSA da impiegare fino a nuova e diversa indicazione. (Bur del Veneto n. 52 del 20 maggio 2014). <http://bur.regione.veneto.it/BurServices/pubblica/SommarioSingoloBur.aspx?num=52&date=20%2f05%2f2014>.
- [40] TWK, Provisional evaluation of PFT in drinking water with the guide substances perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) as examples, Drinking Water Commission of the German Ministry of Health at the Federal Environment Agency, 2006.
- [41] M. Wilhelm, S. Bergmann, H.H. Dieter, Occurrence of perfluorinated compounds (PFCs) in drinking water of North Rhine-Westphalia, Germany and new approach to assess drinking water contamination by shorter-chained C4-C7 PFCs, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 213 (2010) 224–232.
- [42] US, State of Minnesota Health Risk Limits for Groundwater Adopted: 2011. <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/risk/rules/water/>.
- [43] M. Mazzoni, M. Rusconi, S. Valsecchi, C.P.B. Martins, S. Polesello, An on-Line solid phase extraction-Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of perfluoroalkyl acids in drinking and Surface Waters, *J. Anal. Methods Chem.* (2015) 13.
- [44] R. Loos, B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, G. Bidoglio, EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters, *Environ. Pollut.* 157 (2009) 561–568.
- [45] A. Latala, M. Nedzi, P. Stepnowski, Acute toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids towards the Baltic microalgae, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 28 (2009) 167–171.
- [46] I. Rodea-Palmares, F. Leganes, R. Rosal, F. Fernandez-Pinas, Toxicological interactions of perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) with selected pollutants, *J. Hazard. Mater.* 201–202 (2012) 209–218.
- [47] I. Colombo, W.d. Wolf, R.S. Thompson, D.G. Farrar, R.A. Hoke, J. L'Haridon, Acute and chronic aquatic toxicity of ammonium perfluorooctanoate (APFO) to freshwater organisms, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71 (2008) 749–756.
- [48] R. Rosal, I. Rodea-Palmares, K. Boltes, F. Fernandez-Pinas, F. Leganes, A. Petre, Ecotoxicological assessment of surfactants in the aquatic environment: combined toxicity of docusate sodium with chlorinated pollutants, *Chemosphere* 81 (2010) 288–293.
- [49] G. Ding, M. Wouterse, R. Baerselman, W.J. Peijnenburg, Toxicity of polyfluorinated and perfluorinated compounds to lettuce (*Lactuca sativa*) and green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62 (2012) 49–55.
- [50] S. Yang, F. Xu, F. Wu, S. Wang, B. Zheng, Development of PFOS and PFOA criteria for the protection of freshwater aquatic life in China, *Sci. Total Environ.* 470–471 (2014) 677–683.
- [51] C. Hu, Q. Luo, Q. Huang, Ecotoxicological effects of perfluorooctanoic acid on freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Scenedesmus obliquus*, *Environ. Toxicol. Chem.* 33 (2014) 1129–1134.
- [52] R. Ji, Y. Kim, S. Oh, B. Ahn, H. Jo, K. Choi, Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna*) and *Moina macropoda* and fish (*Oryzias latipes*), *Environ. Toxicol. Chem.* 27 (2008) 2159–2168.
- [53] G.H. Ding, T. Fromel, E.J. van den Brandhof, R. Baerselman, W.J. Peijnenburg, Acute toxicity of poly- and perfluorinated compounds to two cladocerans, *Daphnia magna* and *Chydorus sphaericus*, *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (2012) 605–610.
- [54] M.H. Li, Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to plants and aquatic invertebrates, *Environ. Toxicol.* 24 (2009) 95–101.
- [55] L. Zhang, J. Niu, Y. Li, Y. Wang, D. Sun, Evaluating the sub-lethal toxicity of PFOS and PFOA using rotifer *Brachionus calyciflorus*, *Environ. Pollut.* 180 (2013) 34–40.
- [56] M. Ulhaq, G. Carlsson, S. Orn, L. Norrgren, Comparison of developmental toxicity of seven perfluoroalkyl acids to zebrafish embryos, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 36 (2013) 423–426.
- [57] A. Hagenaaers, L. Vergauwen, W. De Coen, D. Knapen, Structure-activity relationship assessment of four perfluorinated chemicals using a prolonged zebrafish early life stage test, *Chemosphere* 82 (2011) 764–772.
- [58] E. Mulkiewicz, B. Jastorff, A.C. Skladanowski, K. Kleszczynski, P. Stepnowski, Evaluation of the acute toxicity of perfluorinated carboxylic acids using eukaryotic cell lines, bacteria and enzymatic assays, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23 (2007) 279–285.
- [59] L. Mhadhbi, D. Rial, S. Perez, R. Beiras, Ecological risk assessment of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in marine environment using *Isochrysis galbana* *Paracentrotus lividus*, *Siriella armata* and *Psetta maxima*, *J. Environ. Monit.* 14 (2012) 1375–1382.
- [60] M.L. Hanson, J. Small, P.K. Sibley, T.M. Boudreau, R.A. Brain, S.A. Mabury, K.R. Solomon, Microcosm evaluation of the fate, toxicity, and risk to aquatic macrophytes from perfluorooctanoic acid (PFOA), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 49 (2005) 307–316.
- [61] M.-H. Li, Chronic effects of perfluorooctane sulfonate and ammonium perfluorooctanoate on biochemical parameters, survival and reproduction of *Daphnia magna*, *J. Health Sci.* 56 (2010) 104–111.



17SMC0007830