

Priorisierung und Identifizierung von PFAS mittels automatisierter Datenanalyse im Non-target Screening durch PFAScreen

Jonathan Zweigle¹ (jonathan.zweigle@uni-tuebingen.de), Boris Bugsel¹ (boris.bugsel@uni-tuebingen.de), Joel Fabregat-Palau² (joel.fabregat-palau@uni-tuebingen.de), Christian Zwiener¹ (christian.zwiener@uni-tuebingen.de)

¹ Umweltanalytik, FB Geowissenschaften, Eberhard Karls Universität Tübingen

² Hydrogeochemie, FB Geowissenschaften, Eberhard Karls Universität Tübingen

Zusammenfassung

Per- und polyfluorierte Alkylverbindungen (PFAS) bilden eine weit gefächerte Klasse von anthropogenen Chemikalien mit einzigartigen Eigenschaften, die jedoch in der Umwelt sehr persistent sind. Aufgrund der großen Zahl von PFAS und der limitierten Referenzstandards ist für deren Identifizierung das Non-Target Screening (NTS) mittels hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS) unerlässlich. Im NTS ist eine Priorisierung von relevanten Signalen essenziell für eine effiziente Auswertung. Daher haben wir das Tool PFAScreen entwickelt, welches eine automatische zielgerichtete Priorisierung von potenziellen PFAS in HRMS Rohdaten ermöglicht. Um hochfluorierte PFAS von anderen Signalen zu trennen, wurden Techniken wie der neue MD/C-m/C Ansatz, die Kendrick-massendefektanalyse sowie Fragmentmassendifferenzen und diagnostische Fragmente (MS/MS) kombiniert. Der Arbeitsablauf wird anhand kontaminierter Böden und der Identifizierung von über 80 PFAS präsentiert.

Einleitung

Per- und polyfluorierte Alkylverbindungen (PFAS) sind eine große Gruppe anthropogener Chemikalien, die mehrere C-F-Bindungen enthalten [1]. Aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften werden sie in unzähligen Alltagsprodukten und sowie in industriellen Prozessen eingesetzt [2]. Die perfluorierten Kohlenstoffketten von PFAS weisen eine intrinsische Persistenz auf, weshalb PFAS und deren Transformationsprodukte (TPs) in der Umwelt nicht in nennenswertem Maße abgebaut werden und global detektierbar sind [3]. Heutzutage reicht die Anzahl von bekannten PFAS von Tausenden bis zu Millionen, je nach Definition und Informationsquelle [4]. Obwohl die Produktion einzelner PFAS global eingeschränkt ist, werden dennoch unzählige neue PFAS mit tendenziell ähnlicher Persistenz produziert [5]. Deshalb sollen PFAS in der Europäischen Union erstmals als Gesamtklasse reguliert werden [6].

Frühere Studien haben vielfach beträchtliche unbekannte Anteile an organisch gebundenem Fluor in Umweltproben aufgezeigt, wenn die Menge an Fluor mit der Targetanalytik verglichen wurde [7,8]. Aufgrund der schieren Anzahl potenziell auftretender PFAS, ist eine umfassende Verwendung analytischer Referenzstandards nicht möglich. Daher ist das Non-Target-Screening (NTS) auf der Grundlage der hochauflösenden Massenspektrometrie (HRMS) für eine umfassende Charakterisierung notwendig [9]. NTS ist in der Regel ein zeit-

aufwändiger und oft auch ein teilweise manueller Prozess, weshalb effiziente Priorisierungstechniken benötigt werden.

Anders als in generischen NTS-Ansätzen erlauben die intrinsischen Eigenschaften von PFAS ab einem gewissen Fluoranteil die Anwendung von effizienten Techniken zu deren Priorisierung [10]. Beispielsweise ist der chemische Massendefekt (MD) von PFAS in der Regel niedriger als der von Kohlenwasserstoffen und wurde deshalb häufig für eine Priorisierung genutzt [11]. Allerdings existiert kein klar abgegrenzter MD-Bereich und hochmolekulare organische Verbindungen mit sehr hohen positiven MD können nicht von PFAS-typischen negativen MD unterschieden werden [12]. Kürzlich wurde ein vielversprechender Ansatz auf der Grundlage der Abschätzung der Kohlenstoffzahl aller detektierten Signale vorgeschlagen [13]. Die Kohlenstoffzahl kann für alle HRMS-Signale leicht aus dem M+1 Isotop und dem ¹²C/¹³C-Verhältnis bestimmt werden. Wenn nun die Masse m sowie der MD auf die Kohlenstoffanzahl normiert wird, erhält man für PFAS hohe m/C-Werte, da ihre Masse von Fluor dominiert wird (m/C ~ 30-50; CF bis CF₂), während typische organische Verbindungen mit ähnlicher Masse von Kohlenstoff dominiert werden (m/C ~ 14-30, CH₂ bis CH₂O), was eine effiziente Unterscheidung ermöglicht. Über die zweite Dimension des MD/C-Verhältnisses kann diese noch verbessert werden. Prinzipielle Vorteile und Limitierungen dieses sogenannten MD/C-m/C-Ansatzes wurden von uns auf Grundlage von etwa 490000 chemischen Formeln (davon ~220000 PFAS) herausgearbeitet. Dabei zeigte sich, dass eine Vielzahl relevanter PFAS effizient priorisiert werden können [14]. Dies ist in Abbildung 1 mittels eines 2D-Histogramms ersichtlich. Die MD/C-m/C-Positionen von über 50000 Features aus HRMS-Daten von PFAS-kontaminierten Böden und beschichteten Papieren verdeutlichen dies anhand der klaren Trennung von potenziell hochfluorierten Verbindungen (Region 3, um m/C ≈ 40, MD/C = 0,002). Dieser Ansatz funktioniert besser, je höher der Fluoranteil in einem Molekül ist und ist daher nicht für Kohlenwasserstoffe mit nur einer einzigen CF₃-Gruppe wie z.B. fluorierte Pharmaka oder Pestizide geeignet.

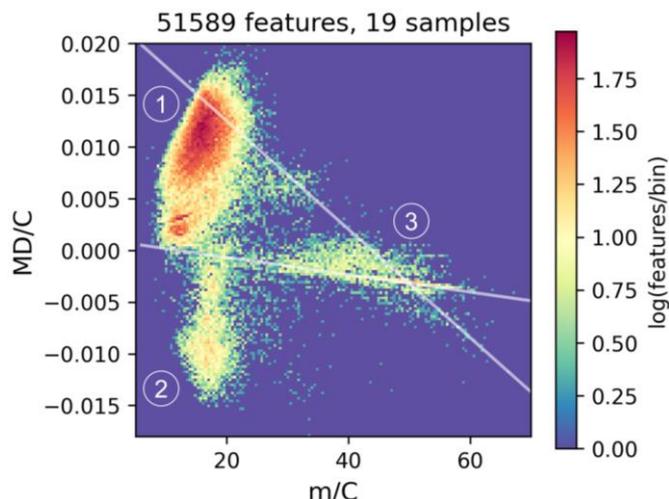


Abb. 1: 2D-Histogramm der Anzahl der Verbindungen (logarithmische Skala) (Dichte an gemessenen Signalen) im MD/C-m/C-Plot von 19 Proben verschiedener Papier- und Bodenextrakte, Standards und Blanks (19 Proben stammen aus [15-17]). Typische organische Verbindungen befinden sich in der Regel unter $m/C = 25$ mit einem deutlich positivem MD/C (Position 1), während bei einer bestimmten H-Anzahl ein MD von $+0,5$ Da überschritten wird, was zu einem mathematisch negativem MD/C führt (Position 2). Stark fluoridierte Verbindungen oder Verbindungen mit anderen schweren Heteroatomen sind stark in erhöhte m/C -Regionen verschoben (Position 3). Damit ist eine klare Trennung möglich. Für Details siehe auch Zweigle et al. [14].

Spezifischere Ansätze wie die Kendrickmassendefekt-Analyse (KMD) zur Detektion homologer Reihen (z.B. CF_2 - oder CF_2O -Wiederholeinheit) sind von großer Bedeutung für PFAS [18]. Weiter wurden häufig Listen PFAS-spezifischer diagnostischer Fragmente (DFs) von MS^2 Daten genutzt [19]. Außerdem können sehr effizient ausgewählte Fragmentmassendifferenzen (auch Neutralverluste genannt; z.B. $\Delta(CF_2)_n$, ΔHF , $\Delta C_n H_3 F_{2n-3}$, etc.) verwendet werden, um PFAS-Fragmente zu detektieren [16]. Der Vorteil von Massendifferenzen besteht darin, dass die Massen der detektierten Fragmente nicht bekannt sein müssen. Das kann im NTS sehr hilfreich sein, wenn neue Verbindungen im Fokus stehen.

Diese spezifischen Techniken sowie das Suspectscreening mit großen Substanzlisten in komplexen Proben sind anfällig für eine hohe Zahl von falsch-positiven Nachweisen, die oft zeit- und aufwändig manuell aussortiert werden müssen.

Wenn nun die Anzahl der Signale durch den MD/C-m/C-Ansatz vor der Anwendung dieser Techniken effizient reduziert wird, kann der NTS-Arbeitsablauf deutlich verbessert werden. Obwohl viele der beschriebenen PFAS-spezifischen Techniken einzeln verwendet wurden, wurden sie selten effizient in Open-Source-Workflows kombiniert.

Um diesem Ziel näher zu kommen und das NTS für PFAS in komplexen Proben zu erleichtern, haben wir das Python-basierte Open-Source-Tool PFAScreen entwickelt. Es ist mit einer einfachen grafischen Benutzeroberfläche (GUI) ausge-

stattet und kann Rohdaten unabhängig vom verwendeten Massenspektrometer verarbeiten. Der PFAScreen-Workflow wird hier anhand von vier PFAS-kontaminierten landwirtschaftlichen Böden aus Südwestdeutschland präsentiert. PFAScreen ist frei verfügbar (<https://github.com/JonZwe/PFAScreen>).

Material und Methoden

Der PFAScreen Workflow

PFAScreen ist ein vollautomatisches Tool zur Detektion und Priorisierung potenzieller PFAS-Features in massenspektrometrischen Rohdaten, das auf Python basiert (Abbildung 2). PFAScreen kann ohne Programmierkenntnisse genutzt werden (Details in Zweigle et al. 2023 [12]). Die MS-Rohdaten müssen mit der MSConvert-Software in das mzML-Format umgewandelt werden [20]. Als Eingangsdaten werden centriodierte Data-Dependent-Aquisition (DDA) mzML-Dateien akzeptiert.

Im ersten Schritt führt PFAScreen über die pyOpenMS Bibliothek eine Featuredetection durch [21, 22]. Dies resultiert in einer Liste von m/z -Werten, Retentionszeiten (RT) und Peakflächen mit bereits zugehöriger $M+1$ -Isotopie. Anschließend werden die MS^2 -Spektren den detektierten Features zugeordnet.

Aktuell kann eine Probe sowie ein Blank prozessiert werden, wobei eine automatische Blankkorrektur durchgeführt wird. Falls eine andere Software für die Featuredetection erwünscht ist, kann auch eine eigene Feature-Liste geladen werden.

In der folgenden PFAS-Priorisierung soll zunächst der MD/C-m/C-Plot manuell inspiziert werden, um sinnvolle Bereiche für eine Priorisierung zu bestimmen (z.B. $m/C > 30$, $MD/C < +0,002$) und um Features zu entfernen, die nicht von Interesse sind.

Dies erlaubt nun KMD-Analyse, MS^2 -Priorisierung sowie das Suspectscreening mit geringeren Falsch-Positiv-Raten. Da PFAScreen in der Regel unter einer Minute benötigt (z.B. für ~4000 Spektren pro Probe), können die Parameter leicht variiert werden, um ihren Einfluss auf das Endergebnis zu testen. Abschließend werden interaktive Plots sowie Tabellen mit den Ergebnissen gespeichert.

Nun können auch die Rohdaten direkt visualisiert werden (Abbildung 2, Punkt 3). Dies beinhaltet Extracted Ion Chromatograms (EICs), MS^1 und MS^2 -Spektren, Überlagerung von theoretischen mit gemessenen Isotopenmustern sowie die Korrelation von EICs, um zusammengehörige Addukte oder In-Source-Fragmente zu clustern.

Bodenextraktion und instrumentelle Analytik

Um PFAScreen vorzustellen, wurden vier PFAS-kontaminierte landwirtschaftliche Böden aus den Regionen Rastatt (R1, R2) und Mannheim (M1, M2) extrahiert und mittels HPLC-QTOF-MS gemessen. Diese landwirtschaftlichen Felder wurden in der

Vergangenheit mit kontaminiertem Papierschlamm beaufschlagt [23]. 5 g getrockneter Boden (40 °C) wurde zweifach mit 10 mL Methanol (MeOH) extrahiert (Ultraschall und 16 h Schütteln). Die Extrakte wurden auf 1 mL angereichert. Anschließend wurden diese mit einem Agilent 1260 Infinity HPLC-System, gekoppelt an ein Agilent 6550 QTOF-Massenspektro-

meter, analysiert (Poroshell 120 EC-C₁₈-Säule). Nach einem 23-minütigen Gradientenprogramm wurde mittels negativer Elektrosprayionization mit 3 Scans/Minute im DDA-Verfahren gemessen. Diverse Blanks und Extraktionskontrollen wurden berücksichtigt. Jede Messsequenz enthielt Standards und Qualitätskontrollen.

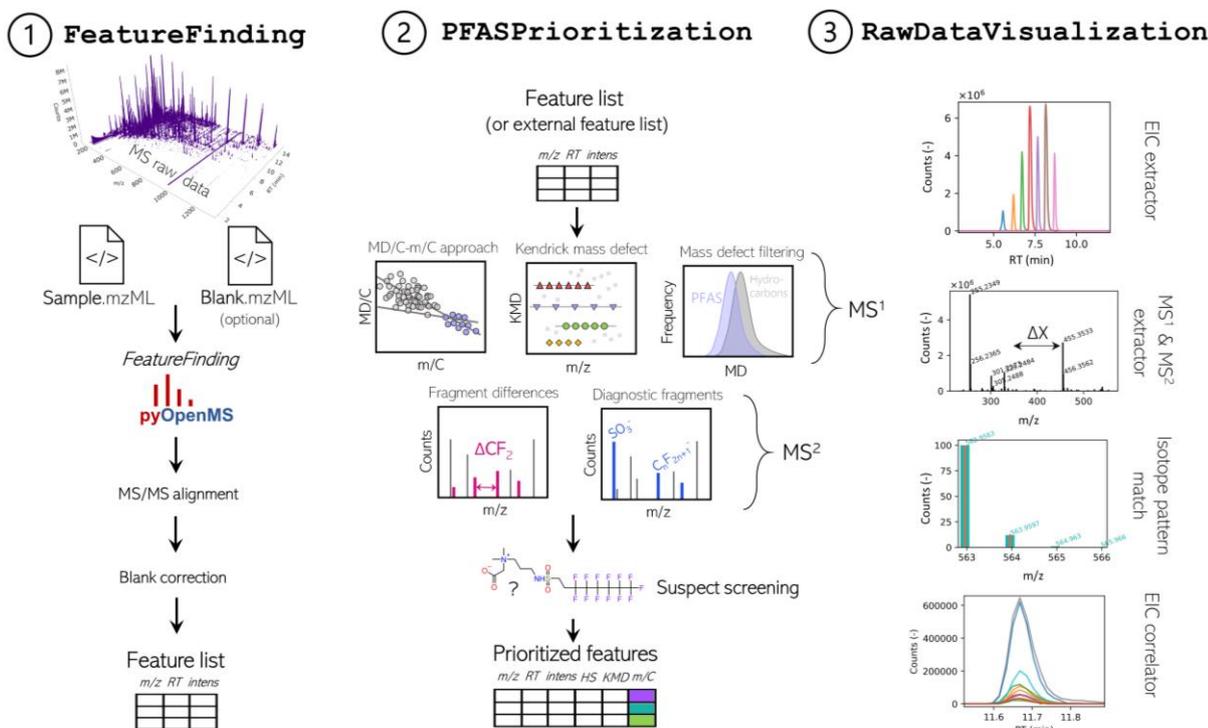


Abb. 2: Schematischer Überblick über den PFAScreen-Workflow.

Ergebnisse und Diskussion

Datenreduktion mittels MD/C-m/C Ansatz

PFAScreen wurde für die Identifizierung von PFAS in den vier Böden genutzt, wobei z.B. in Boden M1 4209 Features (nach Zusammenführung der Isotope) detektiert wurden, welche mit der Blankkorrektur auf 3750 reduziert wurden. Nun wurde der MD/C-m/C Ansatz genutzt, um Features in PFAS-untypischen Regionen zu entfernen. Betrachtet man alle vier Böden gemeinsam (über 12.000 Features), so lässt sich eine klare Trennung zwischen drei oben diskutierten Gruppen von Verbindungen feststellen (Abbildung 3a). Die meisten Features sind um $m/C \approx 16$ verteilt (Abbildung 3b). Dies ist eine typische Region von organischen Verbindungen. Die Akkuranz der Bestimmung der Kohlenstoffzahl hängt vom Peak-Picking-Algorithmus ab, daher sollte immer mit einer gewissen Unsicherheit gerechnet werden. Nichtsdestotrotz liegen ca. 92% aller detektierten Features deutlich unter $m/C = 30$ (z.B. Huminstoffe), weshalb als Grenzwert $m/C = 30$ gewählt wurde. Hochfluorierte PFAS haben in der Regel ein deutlich höheres m/C -Verhältnis (z.B. $m/C_6:2diPAP \approx 49$, $m/CPFOA \approx 51$). Über einen MD/C-Cutoff größer als +0,003 konnten weitere Features entfernt werden, wobei die m/C -Dimension wesentlich effektiver war. Die Kombination von m/C und MD/C führte zum Verbleib von 7,4 % der 12000 Features in den vier Böden.

Identifizierung mittels PFAS-spezifischer Auswertung und Suspectscreening

Aufgrund der starken Datenreduktion (~90%) konnten nun die folgenden Schritte (KMD, Fragmentmassendifferenzen, Suspectscreening) mit niedrigerer Falsch-Positiv-Rate durchgeführt werden. Beispielsweise wurden in Boden M1 ohne m/C -Cutoff 74 (CF₂)_n-basierte homologe Reihen nachgewiesen. Darunter sind auch zahlreiche Falsch-Positive enthalten, was durch ein zufälliges Retentionszeit-Muster im KMD-Plot und extreme KMD-Werte belegt wird (Abbildung 4a). Nach Datenreduktion blieben 26 homologe Reihen übrig (Abbildung 4b). Auch im Suspectscreening wurden die Treffer von 217 auf 176 reduziert. Dies trifft auch auf diverse MS²-Spektren zu, welche mittels der Massendifferenzen und diagnostischer Fragmente detektiert wurden.

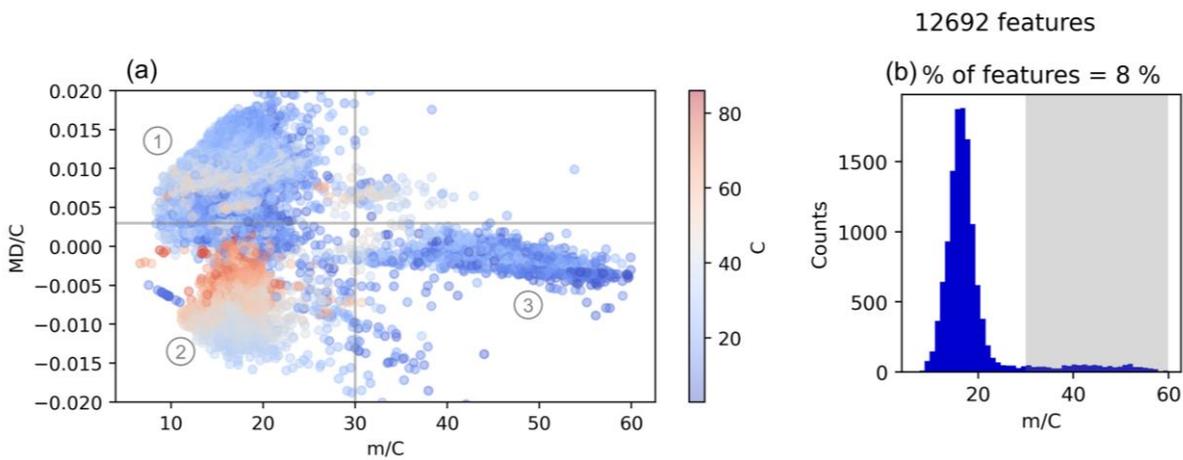


Abb. 3: Datenreduktion durch den MD/C-m/C-Ansatz. (a) MD/C-m/C-Plot für alle detektierten Features (12692) in den vier Bodenextrakten. Potenzielle PFAS (3) sind deutlich von typischen organischen (1) und höhermolekularen Verbindungen (2) getrennt, welche einen MD von +0,5 erheblich überschreiten (Umklassen durch mathematisches Runden). Die Anzahl der Features wird über den MD/C-m/C Cutoff auf 7,4 % reduziert (graue Linien in a). (b) Ein Histogramm über die m/C-Dimension verdeutlicht die Stärke des Ansatzes. Der PFAS-relevante m/C-Bereich (8% aller Features) ist grau hinterlegt.

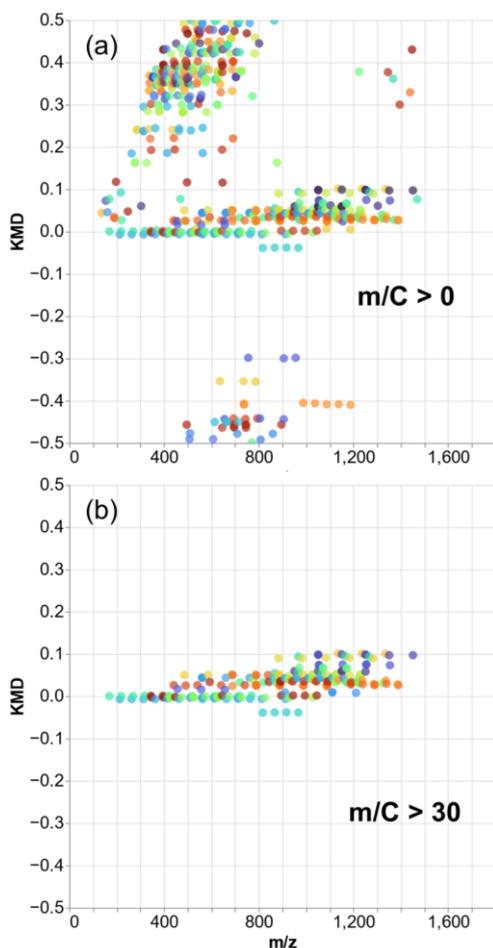


Abb. 4: Wahre und falsch-positiv (CF₂)_n-basierte homologe Reihen in Boden M1. (a) Ohne m/C-Filterung und (b) mit m/C > 30 Cutoff. Für die KMD Zuordnung wurde eine Massentoleranz von ± 1 mDa festgelegt. Selbst bei der niedrigen Massentoleranz werden Matrixkomponenten mit falsch zugeordneter CF₂-Wiederholungseinheit detektiert.

Mittels der Ergebnistabelle von PFAScreen und der Datenvisualisierung wurden nun tentative Hits überprüft und identifiziert. Als Kriterien wurden eine gute Peakform, passendes Isotopenmuster, korrekte Retentionsreihenfolge im KMD-Plot sowie mindestens ein gut erklärbares Fragmentierungsspektrum pro Homolog festgelegt. Dies führte zu insgesamt neun identifizierten PFAS-Klassen über Treffer mittels Suspectscreening. Perfluoralkylcarbonsäuren (PFCAs, C₄₋₂₀), Fluortelomeralkylphosphatdiester (diPAPs, 4:2/6:2-12:2/12:2), n:3 Fluortelomercarbonsäuren (FTCAs, 5:3-13:3), Fluortelomersulfonsäuren (FTSAs, 6:2-16:2), Perfluorsulfonsäuren (PFSAs, C₄₋₁₀), Perfluoroctansulfonamid (PFOSA), N-Ethylperfluoroctansulfonamidoessigsäure (N-EtFOSAA) und N-Ethylperfluoroctansulfonamid-Phosphatdiester (diSAM-PAP) wurden in allen vier Böden gefunden. Substanzen wie diPAPs wurden als komplexe Mischungen mehrerer struktureller Isomere nachgewiesen sowie als triPAPs (über In-Source Fragmente). Alle Perfluoralkansulfonylfluorid-basierte PFAS wiesen typische Peakformen aus verzweigten und linearen Isomeren auf. Alle vier Böden zeigten ein ähnliches Kontaminationsmuster, wobei in M1 und M2 (Region Mannheim) FTMAPs und FTMAP-Sulfoxide als zusätzliche Vorläufer identifiziert wurden (Abbildung 5). Alle Identifizierungen (außer FTMAP-Sulfoxid) wurden mit einem analytischen Standard pro homologe Reihe identifiziert und passen gut zu vorangegangenen Studien [24, 25].

Die Ergebnistabelle enthielt auch mehrere unbekannte homologe Reihen ohne Datenbankeintrag. Davon konnten deutlich über 10 Reihen mit Hilfe der Korrelation von EICs in vier Klassen eingeteilt werden. Dies gelang, indem das EIC eines Verdächtigen mit EICs aller Features in einem bestimmten Retentionszeitfenster korreliert wurde (z.B. etwa 300 Features in einem ±25 Sekunden-RT-Fenster). Dies lieferte ein MS¹ Spektrum mit allen zusammengehörigen In-Source Fragmenten sowie Addukten (bei hoher Korrelation). Bei Betrachtung der Massenunterschiede der nachgewiesenen koelueierenden Ionen konnten [M+Cl]⁻, [M-Br]⁻, [M+Ac]⁻-Addukte und

viele weitere Fragmente beobachtet werden. Damit gelang die Identifizierung (ohne [M-H]⁻) von vier FTMAP-Transformationsprodukten mit variierten Oxidationsgraden (siehe Abbildung 5: FTMAP diol O₀₋₄). Diese wurden nach unserem Wissen noch nicht beschrieben und sind vermutlich mikrobiell oder photochemisch induzierte TP von FTMAPs oder sonstige Nebenprodukte. Sie konnten über Homologie, RT-Reihenfolge und Isotopie bestätigt werden.

Schlussfolgerungen

Zusammenfassend kann PFAScreen effizient zur Priorisierung von Features in LC- und GC-HRMS-Rohdaten (ESI und APCI) verwendet werden. Es ist unabhängig von Gerätetyp und Hersteller und ermöglicht damit auch den Vergleich verschiedener Datensätze. Bezüglich der Priorisierung ist insbesondere der

MD/C-m/C-Ansatz ein sehr leistungsfähiges Werkzeug zur drastischen Datenreduktion. Damit werden beim NTS auch Probleme wie hohe Zahlen falsch-positiver Zuordnungen umgangen. Open-Source Workflows sind ein wichtiger Teil des NTS und können dazu beitragen die Datenauswertung reproduzierbar und vergleichbar zu gestalten. Um PFAScreen weiter zu verbessern, sollten zukünftig Erweiterungen wie die batchweise Auswertung und eine Mehrfachbestimmung zur Datenreduktion eingebaut werden. Die Weiterentwicklung des NTS benötigt noch weitere innovative Ansätze um die hohe Zahl, sowie Vorkommen und Verbleib von unbekanntem PFAS in komplexen Umweltproben und technischen Mischungen ganzheitlich zu betrachten, ohne dabei relevante Vertreter zu übersehen.

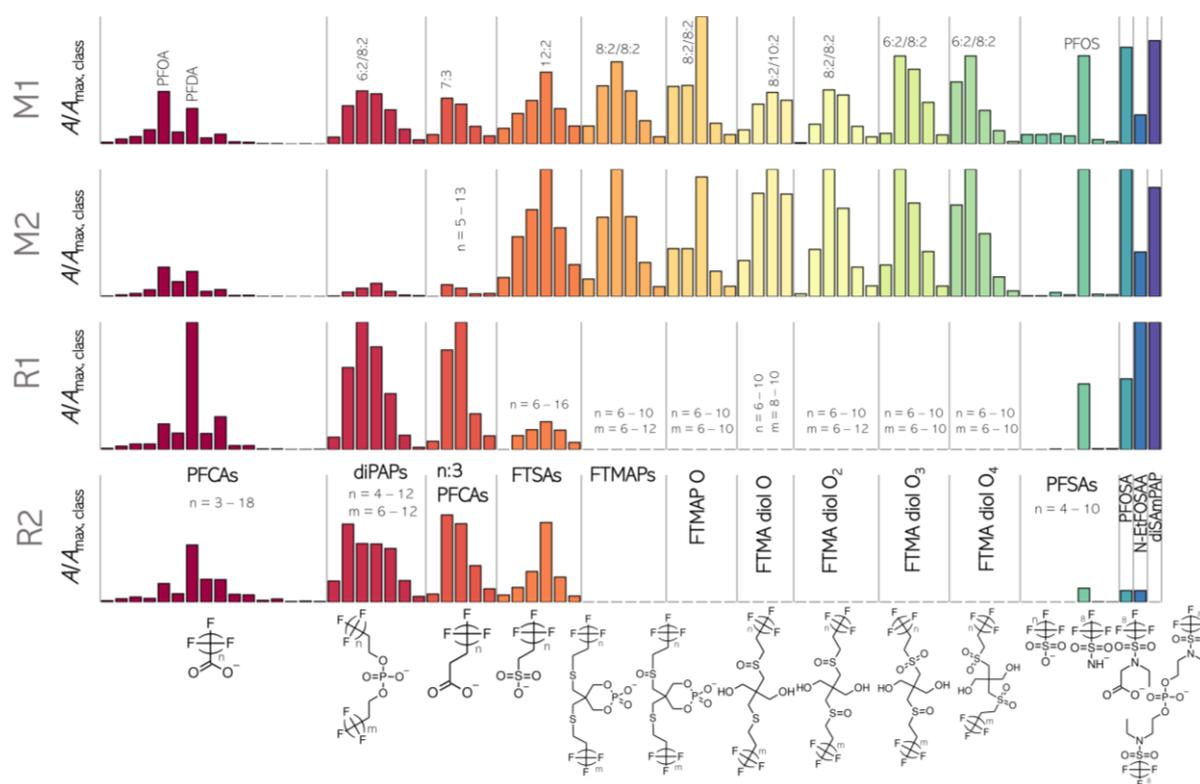


Abb. 5: Qualitative Zusammenfassung der identifizierten PFAS in den vier Böden (M1, M2, R1 und R2). Jede Klasse ist auf die Peakfläche des Homologs mit der höchsten Signalintensität in allen vier Proben normiert.

Referenzen

1. Evich MG, Davis MJB, McCord JP, Acrey B, Awkerman JA, Knappe DRU, Lindstrom AB, Speth TF, Tebes-Stevens C, Strynar MJ, Wang Z, Weber EJ, Henderson WM, Washington JW (2022) Per- and polyfluoroalkyl substances in the environment. *Science* 375 (6580):eabg9065. doi:10.1126/science.abg9065
2. Ng C, Cousins IT, DeWitt JC, Gluge J, Goldenman G, Herzke D, Lohmann R, Miller M, Patton S, Scheringer M, Trier X, Wang Z (2021) Addressing urgent questions for PFAS in the 21st century. *Environ Sci Technol* 55 (19):12755-12765. doi:10.1021/acs.est.1c03386
3. Cousins IT, DeWitt JC, Gluge J, Goldenman G, Herzke D, Lohmann R, Ng CA, Scheringer M, Wang Z (2020) The high persistence of PFAS is sufficient for their management as a chemical class. *Environ Sci Process Impacts* 22 (12):2307-2312. doi:10.1039/d0em00355g
4. Schymanski EL, Zhang J, Thiessen PA, Chirsir P, Kondic T, Bolton EE (2023) Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in PubChem: 7 million and growing. *Environ Sci Technol* 57 (44):16918-16928. doi:10.1021/acs.est.3c04855
5. Kwiatkowski CF, Andrews DQ, Birnbaum LS, Bruton TA, DeWitt JC, Knappe DRU, Maffini MV, Miller MF, Pelch KE, Reade A, Soehl A, Trier X, Venier M, Wagner CC, Wang Z, Blum A (2020) Scientific basis for managing PFAS as a chemical class. *Environ Sci Technol Lett* 7 (8):532-543. doi:10.1021/acs.estlett.0c00255
6. ECHA (2023) ECHA publishes PFAS restriction proposal. <https://echa.europa.eu/de/-/echa-publishes-pfas-restriction-proposal>. Accessed 21.09.2023

7. Aro R, Eriksson U, Kärrman A, Chen F, Wang T, Yeung LWY (2021) fluorine mass balance analysis of effluent and sludge from nordic countries. *ACS ES&T Water* 1 (9):2087-2096. doi:10.1021/acsestwater.1c00168
8. Koch A, Aro R, Wang T, Yeung LWY (2020) Towards a comprehensive analytical workflow for the chemical characterisation of organofluorine in consumer products and environmental samples. *TrAC - Trend Anal Chem* 123:115423. doi:10.1016/j.trac.2019.02.024
9. Liu Y, D'Agostino LA, Qu G, Jiang G, Martin JW (2019) High-resolution mass spectrometry (HRMS) methods for nontarget discovery and characterization of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in environmental and human samples. *TrAC - Trend Anal Chem* 121:115420. doi:10.1016/j.trac.2019.02.02
10. Bugsel B, Zweigle J, Zwiener C (2023) Nontarget screening strategies for PFAS prioritization and identification by high resolution mass spectrometry: A review. *TrEAC - Trend Environ Anal Chem* 40: e00216. doi:10.1016/j.teac.2023.e00216
11. Dickman RA, Aga DS (2022) Efficient workflow for suspect screening analysis to characterize novel and legacy per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in biosolids. *Anal Bioanal Chem*. 414: 4497-4507. doi:10.1007/s00216-022-04088-2
12. Zweigle J, Bugsel B, Fabregat-Palau J, Zwiener C (2023) PFDScreen - an open-source tool for automated PFAS feature prioritization in non-target HRMS data. *Anal Bioanal Chem*. 416: 349-362. doi:10.1007/s00216-023-05070-2
13. Kaufmann A, Butcher P, Maden K, Walker S, Widmer M (2022) Simplifying nontargeted analysis of PFAS in complex food matrixes. *J AOAC Int* 105 (5):1280-1287. doi:10.1093/jaoacint/qsac071
14. Zweigle J, Bugsel B, Zwiener C (2023) Efficient PFAS prioritization in non-target HRMS data: systematic evaluation of the novel MD/C-m/C approach. *Anal Bioanal Chem* 415 (10):1791-1801. doi:10.1007/s00216-023-04601-1
15. Zweigle J, Bugsel B, Röhler K, Haluska AA, Zwiener C (2023) PFAS-contaminated soil site in Germany: Nontarget screening before and after direct TOP assay by Kendrick mass defect and FindPFAS. *Environ Sci Technol* 57 (16):6647-6655. doi:10.1021/acs.est.2c07969
16. Zweigle J, Bugsel B, Zwiener C (2022) FindPFAS: Non-target screening for PFAS - Comprehensive data mining for MS2 fragment mass differences. *Anal Chem* 94 (30):10788-10796. doi:10.1021/acs.analchem.2c01521
17. Bugsel B, Bauer R, Herrmann F, Maier ME, Zwiener C (2022) LC-HRMS screening of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in impregnated paper samples and contaminated soils. *Anal Bioanal Chem* 414 (3):1217-1225. doi:10.1007/s00216-021-03463-9
18. Munoz G, Michaud AM, Liu M, Vo Duy S, Montenach D, Resseguier C, Watteau F, Sappin-Didier V, Feder F, Morvan T, Houot S, Desrosiers M, Liu J, Sauve S (2022) Target and nontarget screening of PFAS in biosolids, composts, and other organic waste products for land application in France. *Environ Sci Technol* 56 (10):6056-6068. doi:10.1021/acs.est.1c03697
19. Koelmel JP, Paige MK, Aristizabal-Henao JJ, Robey NM, Nason SL, Stelben PJ, Li Y, Kroeger NM, Napolitano MP, Savvaides T, Vasiliou V, Rostkowski P, Garrett TJ, Lin E, Deigl C, Jobst K, Townsend TG, Godri Pollitt KJ, Bowden JA (2020) Toward comprehensive per- and polyfluoroalkyl substances annotation using fluoromatch software and intelligent high-resolution tandem mass spectrometry acquisition. *Analytical Chemistry* 92 (16):11186-11194. doi:10.1021/acs.analchem.0c01591
20. Chambers MC, Maclean B, Burke R, Amodei D, Ruderman DL, Neumann S, Gatto L, Fischer B, Pratt B, Egertson J, Hoff K, Kessner D, Tasman N, Shulman N, Frewen B, Baker TA, Brusniak MY, Paulse C, Creasy D, Flashner L, Kani K, Moulding C, Seymour SL, Nuwaysir LM, Lefebvre B, Kuhlmann F, Roark J, Rainer P, Detlev S, Hemenway T, Huhmer A, Langridge J, Connolly B, Chadick T, Holly K, Eckels J, Deutsch EW, Moritz RL, Katz JE, Agus DB, MacCoss M, Tabb DL, Mallick P (2012) A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. *Nat Biotechnol* 30 (10):918-920. doi:10.1038/nbt.2377
21. Röst HL, Schmitt U, Aebersold R, Malmstrom L (2014) pyOpenMS: a Python-based interface to the OpenMS mass-spectrometry algorithm library. *Proteomics* 14 (1):74-77. doi:10.1002 /pmic.201300246
22. Röst HL, Sachsenberg T, Aiche S, Bielow C, Weisser H, Aicheler F, Andreotti S, Ehrlich HC, Gutenbrunner P, Kenar E, Liang X, Nahnsen S, Nilse L, Pfeuffer J, Rosenberger G, Rurik M, Schmitt U, Veit J, Walzer M, Wojnar D, Wolski WE, Schilling O, Choudhary JS, Malmstrom L, Aebersold R, Reinert K, Kohlbacher O (2016) OpenMS: a flexible open-source software platform for mass spectrometry data analysis. *Nat Methods* 13 (9):741-748. doi:10.1038/nmeth.3959
23. Röhler K, Susset B, Grathwohl P (2023) Production of perfluoroalkyl acids (PFAAs) from precursors in contaminated agricultural soils: Batch and leaching experiments. *Sci Total Environ* 902:166555. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.166555
24. Bugsel B, Zwiener C (2020) LC-MS screening of poly- and perfluoroalkyl substances in contaminated soil by Kendrick mass analysis. *Anal Bioanal Chem* 412 (20):4797-4805. doi:10.1007/s00216-019-02358-0
25. Nürenberg G, Nödler K, T LF, Schäfer C, Huber K, Scheurer M (2018) Nachweis von polyfluorierten Alkylphosphatestern (PAP) und Perfluoroktansulfonamidoethanol-basierten Phosphatestern (SAM-PAP) in Böden. *Mitt Umweltchem Ökotox* 24 (2):28-32.

Korrespondenzadresse

Jonathan Zweigle
 Umweltanalytik
 FB Geowissenschaften
 Eberhard Karls Universität Tübingen
 Schnarrenbergstraße 94-96
 72076 Tübingen
 Tel.: 07071-2973169
 E-Mail: jonathan.zweigle@uni-tuebingen.de