

一种基于气相色谱-质谱检测水中 N-亚硝基二甲胺 (NDMA) 的固相萃取方法^{*}

刘清明 张雪晨 周 全 刘永东^{**} 钟儒刚

(北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京, 100124)

摘 要 建立了一种适合于气相色谱-质谱(GC-MS)测定水中 N-亚硝基二甲胺(NDMA)含量的固相萃取(SPE)方法. 研究中比较了几种不同吸附剂为填料的 SPE 柱对 NDMA 的吸附效果, 最终发现了一种以椰壳活性炭(activated coconut charcoal)为填料的 SPE 柱对水中 NDMA 的萃取有较好的选择性, 仪器检出限为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 方法检出限为 $5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$. 处理含有 $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ NDMA 的两种基体水溶液后, 平均回收率稳定在 88.5%—100.8%. 本 SPE 柱有较宽的 pH 使用范围, 在 pH 值为 2.5—9.8 范围内对 NDMA 的萃取能力影响较小. 此外, 研究发现同一根 SPE 柱能够重复使用多次, 最大使用次数为 5 次.

关键词 N-亚硝基二甲胺, 气相色谱-质谱, 固相萃取.

N-亚硝基类化合物(NNC)是一类典型的化学致癌物, 其中 N-亚硝基二甲胺(NDMA)又是 NCC 中结构最简单而致癌性、诱变性、致畸性最强的物质之一^[1-3]. NDMA 广泛存在于啤酒、烟草、婴儿奶瓶及化妆品中^[4-5], 由于氯化消毒作用可以产生 NDMA, 因此其在饮用水和市政游泳池水中也可能存在^[6]. 2007 年, 美国环境保护局(US EPA)限定饮用水中 NDMA 最大浓度为 $7 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[3]. NDMA 受到了国内外越来越多的关注与研究^[7-9]. 目前针对 NDMA 物化性质而设计的研究方法^[10-12]中, 传统的液液萃取, 由于消耗溶剂量大, 对环境污染程度高, 萃取效率有限等因素逐渐被固相萃取技术(SPE)所取代. 2004 年, USEPA^[13]采用 Lichrolut EN 与 Amborsorb 572 作为吸附剂分析饮用水中亚硝胺类物质, 该方法的报告检出限(RDL)为 $1.6 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 但该方法存在回收率不高、处理周期长等不足之处. Stephen 等^[14]用 Carboxen 564 作为吸附剂, 吸附效率较为理想, 但又由于材料价格昂贵而得不到大量应用. 徐斌^[15]等用 SPE/LC/MS/MS 方法检测了水中痕量的 NDMA, 回收率可达 81%—108%, 其 SPE 方法中要用到乙腈-甲醇-丙酮梯度洗脱, 但是洗脱剂极性较大不适用于 GC-MS 方法.

本文旨在自制 SPE 柱的基础上探索一种操作简便适用性强、回收率高、环境友好且成本低廉的处理水中 NDMA 的 SPE-GC-MS 方法, 从而为国内水体中 NDMA 的分析提供一种参考方法.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

气相色谱-质谱联用仪(GC-MS): 美国 Thermo Fisher Scientific 公司 DSQ(EI 源, 四极杆); 石英毛细管柱: 美国 Agilent J&W 公司 DB-1701($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 固相萃取柱(Agela-PCX 离子交换型、Agela-C18(封端)、Agela-PEP): 天津 Agela Technologies; 固相萃取吸附剂国产活性炭(C_1): 由天津 Agela Technologies 公司提供; 固相萃取吸附剂活性炭(C_2): 美国 Sepulco 公司; 微量进样针($0-10 \mu\text{L}$): 澳大利亚 SGE 公司; 氦气(纯度: $\geq 99.999\%$): 美国 BIP Technologies Experis Gases.

二氯甲烷、乙腈、甲醇、丙酮、正己烷、浓盐酸、氢氧化钠、磷酸盐等均为色谱纯和优级纯试剂, 超纯水由 Milli-Q 超纯水机制备. 标准品 NDMA($100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司.

2010 年 8 月 12 日收稿.

^{*} 国家自然科学基金科学基金(20903006); 北京市科技新星计划(2008B09); 北京市自然科学基金(2092008); 环保公益项目(2010467032)资助.

^{**} 通讯联系人, Tel: 010-67391667; E-mail: ydliu@bjut.edu.cn

1.2 SPE 固相萃取柱的制备

SPE 固相萃取柱的制备方法: 选取 5 mL 体积规格的聚丙烯注射器空管筒, 在管筒底部垫上两层聚丙烯筛板, 两层筛板中间夹一层聚四氟乙烯薄膜, 然后在柱管中加入 600 mg 椰壳质活性炭(activated coconut charcoal), 粒度为 20—40 目, 比表面积为 $1070 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. 在加入柱管前将活性炭用超纯水洗涤搅拌成糊状, 后抽滤至近干呈团状, 再转移至管筒, 用色谱纯甲醇、超纯水依次浸泡洗涤, 抽干, 再在上层用一层筛板压平, 封装备用于水中 NDMA 的萃取.

自制 SPE 柱使用方法: 使用配套的固相萃取装置, 在使用前依次用甲醇、超纯水对制备好的固相萃取柱活化, 负压抽干, 再将样品上样, 浸泡 1 min, 以 $2\text{—}3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率将样品过柱, 彻底抽干, 用适量正己烷淋洗, 彻底抽干. 选用 2 mL 二氯甲烷洗脱, 收集, 定容, 用针滤($0.25 \mu\text{m}$) 过滤后待测.

1.3 GC-MS 测试条件

程序升温条件: 初始温度设置为 $45 \text{ }^\circ\text{C}$, 保留 5 min, 然后以 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速率升高至 $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 保留 5 min; 进样口温度: $200 \text{ }^\circ\text{C}$; 载气流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 传输线温度: $230 \text{ }^\circ\text{C}$; 离子源温度: $250 \text{ }^\circ\text{C}$; 溶剂延迟时间: 3.50 min; Full Scan 扫描范围: 25—100; SIM 碎片离子选择: 74、42、28; 进样模式: 不分流; 进样量: $1 \mu\text{L}$; EI 源电子轰击能量: 70 eV .

1.4 样品的制备

将 $100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 标准品 NDMA 1 mL 用二氯甲烷稀释至 100 mL 用作储备液. 回收率实验中考虑两种水溶液环境(一种为超纯水, 另一种为加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaNO}_2$ 、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 等无机盐的自来水) 对 NDMA 在固相萃取处理过程和分析检测结果的影响, 上样量为 10 mL , 处理前样品中 NDMA 浓度分别为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 应用自制的固相萃取柱将样品处理后, 用 GC-MS 方法检测, 测得方法回收率. 空白实验中采用超纯水做基体, 其它操作步骤与加标实验一致. 由于 NDMA 的光解性质, 实验过程中有关 NDMA 的样品均采用棕色容器储存, 处理过程避免日光照射.

1.5 工作曲线的建立与检出限

应用以上建立好的分析方法测得 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 N-亚硝胺二甲胺(NDMA) 的峰面积, 采用外标方法绘制标准工作曲线, 并得到回归方程为 $Y = 2000000X + 21004$, $R^2 = 0.9983$, 其中 Y 为质荷比为 74 的 NDMA 的碎片峰 SIM 模式下的峰面积, X 为 NDMA 浓度, 单位 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 以 3 倍 S/N 信号比求得 NDMA 的仪器最低检出限为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

2 结果与讨论

2.1 不同 SPE 柱的选择

实验中比较了 5 种类型 SPE 柱: Agela-PCX 离子交换型, Agela-C18(封端), Agela-PEP, 自制国产活性炭(C_1) SPE 柱, 自制 Sepulco 活性炭(C_2) SPE 柱. 其中, Agela-PCX 型 SPE 柱是以聚苯乙烯/二乙烯苯可浸润性聚合物为基质的阳离子交换和反相混合机理的萃取柱, 平均粒度为 $35 \mu\text{m}$, 平均孔径为 $80 \text{ \AA}$, 比表面积为 $600 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; Agela-C18(封端) 型 SPE 柱是以硅胶为基质的反相 C18 萃取柱, 平均粒度为 $45 \mu\text{m}$, 平均孔径为 $60 \text{ \AA}$, 比表面积为 $480 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; Agela-PEP 型 SPE 柱是以官能化聚苯乙烯/二乙烯苯为基质的萃取柱, 表面同时具有亲水性和憎水性基团, 平均粒度为 $35 \mu\text{m}$, 平均孔径为 $80 \text{ \AA}$, 比表面积为 $600 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; 自制国产活性炭 C_1 型 SPE 柱粒度为 30—50 目, 比表面积为 $800\text{—}1100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; 自制 Sepulco 活性炭(activated coconut charcoal) C_2 型 SPE 柱粒度为 20—40 目, 比表面积为 $1070 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$.

考察 5 种类型 SPE 柱对 NDMA 分子的吸附效果. 其中 Agela-PCX 离子交换型柱子具体操作为用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸调 NDMA 样品 pH 至 4, 上样, 先用 1% 氯化甲醇(含有 1% 的氨分子) 3 mL 洗脱, 然后将其在避光条件下自然挥发至近干, 再用 2 mL 二氯甲烷对其溶剂替换后, 用无水硫酸钠干燥, 针滤后进样检测. 其它 3 种 SPE 柱使用方法按 1.2 步骤中所述进行. NDMA 样品浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 基体为超纯水, 上样量为 10 mL , 操作步骤按实验部分中的 1.2 所述进行, 最后用二氯甲烷将洗脱液定容至 2 mL , 取 $1 \mu\text{L}$ 进样至 GC-MS 检测, 每次实验平行 3 份, 得到 5 种 SPE 柱对 NDMA 的吸附效果数据(表 1).

从表 1 中可以看出 ,PCX 柱对于 NDMA 没有吸附作用; C18、PEP 和 C₁ 柱对于 NDMA 有一定的吸附能力 ,其回收率分别仅为 39. 1%、45. 6% 和 69. 1% ,它们的相对偏差也较大 ,分别为 23. 1%、19. 4% 及 5. 6%; 与前几种 SPE 柱比较可明显发现 ,C₂ 柱对 NDMA 具有很强的吸附作用 ,其回收率可高达 98. 6% ,并且其相对偏差较小仅为 2. 7% . 因此 ,本文以下工作均选取吸附效果好的 C₂ 柱作为研究对象.

表 1 5 种 SPE 柱对 NDMA 的吸附效果
Table 1 The adsorbtion of NDMA on five different SPE columns

SPE 柱类型	平均回收率 /% (加标量为 100 μg·L ⁻¹)	相对标准偏差 RSD /% n = 3
PCX	—	—
C18	39. 1	23. 1
PEP	45. 6	19. 4
C ₁	69. 1	5. 6
C ₂	98. 6	2. 7

2. 2 洗脱液的选择及淋洗液使用量的优化

本实验洗脱过程中选用 2 mL 二氯甲烷作为洗脱液 ,不但能满足 GC-MS 分析方法中对样品溶剂的要求 ,而且还保证了对 NDMA 较好的洗脱效果. 另外 ,实验中选取传统固相萃取方法中采用的正己烷作为上样后的淋洗液 ,并考察了正己烷体积对 NDMA 回收率与淋洗效果的影响. 实验中按照 1. 2 步骤中所述固相萃取操作步骤进行 ,淋洗步骤中考察了分别用 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 正己烷作为淋洗液对 10 mL 浓度为 100 μg·L⁻¹ NDMA 样品的淋洗效果和回收率的影响 ,淋洗后分别用 2 mL 二氯甲烷洗脱 ,收集二氯甲烷定容检测 ,每次实验平行 3 份. 样品中选用加入 0. 1 mol·L⁻¹ NaNO₂、0. 1 mol·L⁻¹ NaOH、0. 1 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ 和 0. 1 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄ 等无机盐的自来水作为基体.

从图 1 中可以看出在正己烷的使用量为一柱管体积 5 mL 之内时 ,经固相萃取处理后 NDMA 的回收率保持在 86. 2%—97. 5% ,说明正己烷在使用 5 mL 之内对 NDMA 在活性炭上的吸附效果影响不大 ,但考虑到淋洗效果 ,从 GC-MS 测试结果可以看出在使用正己烷为 1 mL 与 2 mL 时 ,样品总离子流图 (TIC) 中有较多的杂质峰出现 ,此种情况虽然对目标成分 NDMA 的出峰影响不大 ,但杂质成分太多会对仪器造成污染 ,而在使用 3 mL 时 ,样品总离子流图(TIC) 中杂质峰数量明显减少 ,回收率也没有下降 ,值得注意的是在使用 4 mL 时 ,虽然平均回收率最大 ,但相对偏差较大. 当淋洗液大于 4 mL 时 ,正己烷会随淋洗液的增多而流失 NDMA ,导致回收率有所下降. 因此 ,采用 3 mL 作为淋洗步骤中正己烷的使用量.

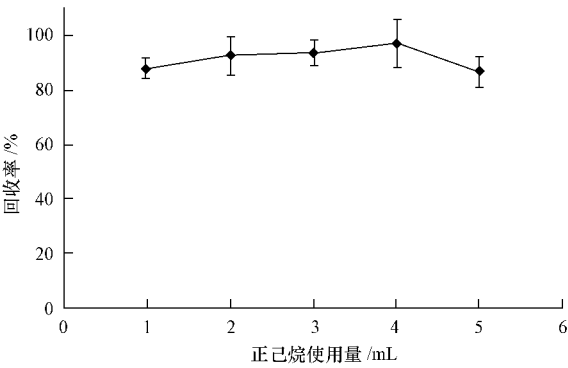


图 1 淋洗液体积对 NDMA 回收效率的影响
Fig. 1 The recovery efficiency of NDMA with different leaching liquid volumes

2. 3 不同水溶液基体对 NDMA 的 SPE 处理效果的影响

考察到 2 种不同的水溶液基体对 NDMA 的 SPE 处理效果的影响 ,上样量均为 10 mL ,用二氯甲烷洗脱后定容至 2 mL ,取 1 μL 进行 GC-MS 检测 ,每次实验平行 3 份 ,加标回收率实验结果列于表 2 中 ,实验中的 2 种水溶液基体空白本身均未检出含有 NDMA.

从实验结果可以看出 ,处理含有 15 μg·L⁻¹ 和 100 μg·L⁻¹ NDMA 的两种基体水溶液后 ,平均回收率在 88. 5%—100. 8% . 超纯水作为 NDMA 样品基体时回收率要低于加入无机盐类自来水的基体 ,这可能

是由于较大的离子强度有利于 NDMA 分子在活性炭填料上的稳定吸附。

表 2 不同水溶液基体对 NDMA 的加标回收率

Table 2 The recovery efficiency of NDMA with different water solution matrixes

	处理前 NDMA/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	处理后 NDMA/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	平均回收率/%	RSD/% $n=3$
超纯水	15	13.27	88.5	3.04
无机盐类自来水		14.1	94	4.23
超纯水	100	98.6	98.6	2.40
无机盐类自来水		101	100.8	3.21

2.4 SPE 柱使用范围探讨

考虑到已建立的 SPE 方法的适用性,本文考察了不同 pH 值对 NDMA 在固相萃取柱上吸附效果的影响,实验中样品加标量为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,不同的 pH 值是通过用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 与 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 调节含有 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NDMA 的超纯水溶液实现,每次实验平行 3 份,结果如图 2 所示。

在 pH 值为 2.5—9.8 范围内,自制 SPE 柱可以对 NDMA 进行有效的吸附,平均回收率变化范围在 77.3%—99.1% 之间, pH 值在 2.8—6.3 之间回收率稳定在 77.3%—90.4%,相对偏低,并且在 pH 值为 2.6 时的回收率要大于 pH 值为 3.4—5.6 之间的回收率,而在 pH 值为 6.3—9.8 之间时平均回收率稳定在 91.7%—99.1%,相对较高。由此可得,中性与偏碱性的环境,对 NDMA 在自制 SPE 柱上的吸附影响不大,而偏酸性的条件会使吸附效果有所下降。

2.5 SPE 柱重复使用情况考察

本文考察了同一根自制 SPE 柱的使用效率。实验过程中采用同一根柱子,连续用相同样品信息的样品过柱处理,实验结果(图 3)证明柱子在第 6 次使用后回收率才有所下降,并且在使用 5 次之内平均回收率基本稳定在 92.4%—105% 之间,基本能保证每次实验中 SPE 柱对 NDMA 的萃取效果。这样不但节约了资源,还提高了自制 SPE 柱萃取水中 NDMA 方法的实用性。

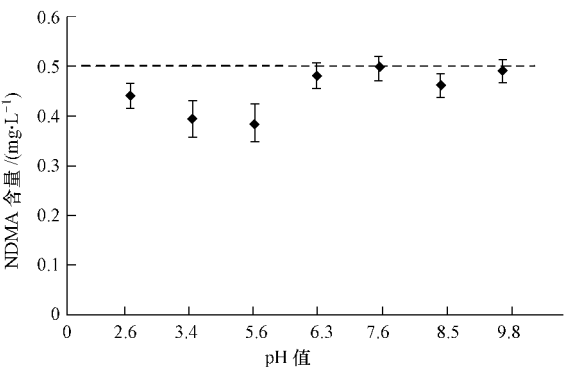


图 2 不同 pH 值对 NDMA 回收效率的影响

Fig. 2 The recovery efficiency of NDMA at different pH values

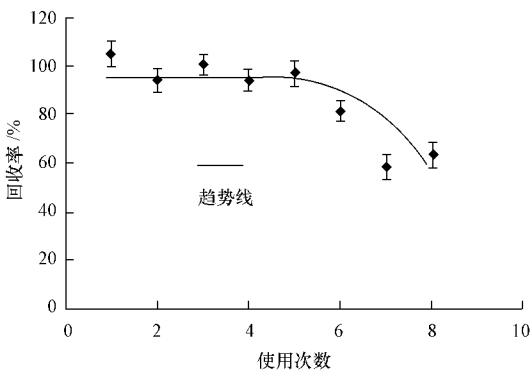


图 3 使用次数对 NDMA 回收率的影响

Fig. 3 The recovery efficiency of NDMA after repeated column use

2.6 实际样品的测定

仪器对 NDMA 的最低检出限为 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,方法检出限(MDL)为 $5\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$,能够满足实际样品的检测需要。用已建立的 SPE-GC-MS 方法,将本实验室自来水过柱浓缩 200 倍上样,分析检测其中 NDMA 含量,实验结果中未有 NDMA 被检出。另外利用本方法还考察了在 pH = 6.4(磷酸缓冲液)恒温 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下,二甲胺($5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)与亚硝酸钠($5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)反应 4 h 后 NDMA 的生成量为 $0.45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3 结论

综上所述,本研究建立了 SPE-GC-MS 测定水中 NDMA 的方法,具有回收率高(88.5%—100.8%),

检出限低($MDL = 5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 操作简便, pH 适用范围宽(2.5—9.8), 环境友好且可重复使用 5 次等特点. 该方法满足实际样品的检测需要, 而且国内有关 NDMA 的研究还属于刚刚起步阶段, 因此, 本方法的建立为水体中 NDMA 的分析提供了参考.

参 考 文 献

- [1] Bogovski P, Bogovski S. Special report animal species in which N-nitroso compounds induce cancer [J]. *Int J Cancer*, 1981, 27 (4): 471-474
- [2] 许后效. 环境中的 N-亚硝基化合物 [M]. 北京: 科学出版社, 1988: 196
- [3] U S Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System(IRIS), Office of Research and Development (ORD) [OL]. [2010-05-15]. <http://www.epa.gov/iris/subst/0045.htm>
- [4] Mitch W, Sharp J, Trussell R, Valentine R, et al. N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: a review [J]. *Environ Eng Sci*, 2003, 20 (5): 389-404
- [5] Charrois J, Arend M, Froese K, et al. Detecting N-nitrosamines in drinking water at nanogram per liter levels using ammonia positive chemical ionization [J]. *Environ Sci Technol*, 2004, 38 (18): 4835-4841
- [6] Mitch W, Sedlak D. Formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) from dimethylamine during chlorination [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36 (4): 588-595
- [7] Sun Z, Liu Y, Zhong R. Theoretical investigation of N-nitrosodimethylamine formation from nitrosation of trimethylamine [J]. *J Phys Chem A*, 2010, 114 (1): 455-465
- [8] Schreiber I, Mitch W. Influence of the order of reagent addition on NDMA formation during chloramination [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39 (10): 3811-3818
- [9] 徐冰冰, 陈志林, 齐飞等. 紫外光降解水中痕量 NDMA 的效能研究 [J]. *环境科学* 2008, 29 (7): 1908-1913
- [10] Schreiber I, Mitch W. Nitrosamine formation pathway revisited: the importance of chloramine speciation and dissolved oxygen [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40 (19): 6007-6014
- [11] Andrzejewski P, Kasprzyk-Hordern B, Nawrocki J. The hazard of N-nitrosodimethylamine(NDMA) formation during water disinfection with strong oxidants [J]. *Desalination*, 2005, 176 (1-3): 37-45
- [12] 胡荣梅, 马立珊. N-亚硝基化合物分析方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 50-59
- [13] Method 521: Determination of nitrosamines in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography with large volume injection and chemical ionization tandem mass spectrometry(MS/MS) [S]. U S Environmental Protection Agency, Washington, DC: EPA/600/R-05/054, 2005
- [14] Stephen W, Carolyn J, Vincent Y, et al. N-nitrosodimethylamine in drinking water using a rapid, solid-phase extraction method [J]. *ESPR-Environ Sci & Pollut Res*, 1995, 2 (4): 207-210
- [15] 梁闯, 徐斌, 夏圣骥等. SPE/LC/MS/MS 检测水中痕量二甲基亚硝胺 [J]. *中国给水排水* 2009, 25 (14): 82-92

AN SPE METHOD FOR GC-MS ANALYSIS OF N-NITROSODIMETHYLAMINE IN DRINKING WATER

LIU Qingming ZHANG Xuechen ZHOU Quan LIU Yongdong ZHONG Rugang

(College of Life Science & Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing, 100124, China)

ABSTRACT

In this paper, a solid-phase extraction (SPE) method suitable for gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to detect the N-nitrosodimethylamine (NDMA) in drinking water was established. By comparing SPE columns with different fillings, the SPE column with the activated coconut charcoal was found to have good selectivity in extraction NDMA from water, with the instrument and method detection limits being $1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. For the two different matrix solutions with NDMA concentrations of $15 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, the average recovery rate was 88.5%—100.8%. The SPE method was found to be effective over a wide range of pH, and the extraction of NDMA was slightly affected in the range of pH 2.5—9.8. In addition, the SPE column could be reused for up to five times.

Keywords: N-nitrosodimethylamine, GC-MS, SPE.