

**Caratterizzazione frazioni petrolifere pesanti mediante tecniche di separazione avanzate:
HPLC S.A.R.A. 2.0**

**Eni spa : PROC - Mauro Magni
INPM - Marco Conti**

- *La metodica*
- *HPLC S.A.R.A - 1.0 confronto campioni via elaborazione del segnale a matrice semplice*
- *HPLC S.A.R.A.-2.0.0 confronto campioni via elaborazione del segnale 3D*
 - Analisi dei segnali*
 - pre-Riconoscimento*
 - Fingerprint*
- *HPLC SARA- 2.1. Fingerprint Avanzato (Analisi di immagini 3D) e Allineamento strumenti*



■ ASTM D2007

- Lavorazione del campione ed ottenimento del Deasfaltato-C5 (5g).
- Separazione in frazioni mediante colonne impaccate.
- Necessità di presidio dell'attività da parte di un operatore.
- Tempo lavorazione totale 2 giorni.

- Collezione di aliquote di frazioni significative.



■ HPLC-SARA

- 0,15 (g) sample CAMPIONE sciolto in 6.0 (g) di THF – successivamente filtrati , 2 (ulit) soluzione iniettato in analisi.
- Separazione in frazioni mediante colonne cromatografiche HPLC.
- Tempo d'analisi 60min.
- Campioni con IBP superiore ai 250°C

- Caratterizzazione tipologia di frazioni attraverso un database di Riferimenti acquisiti con la metodica HPLC.

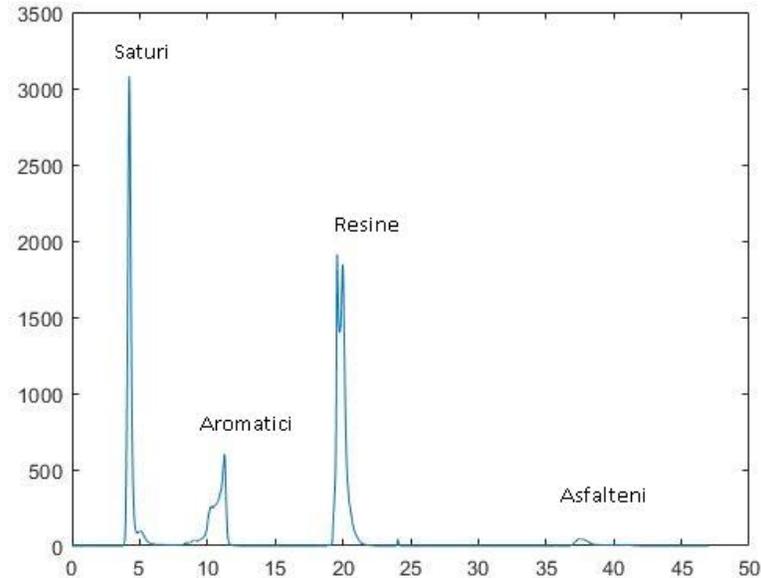


Fig. 1 - Segnale ELSD

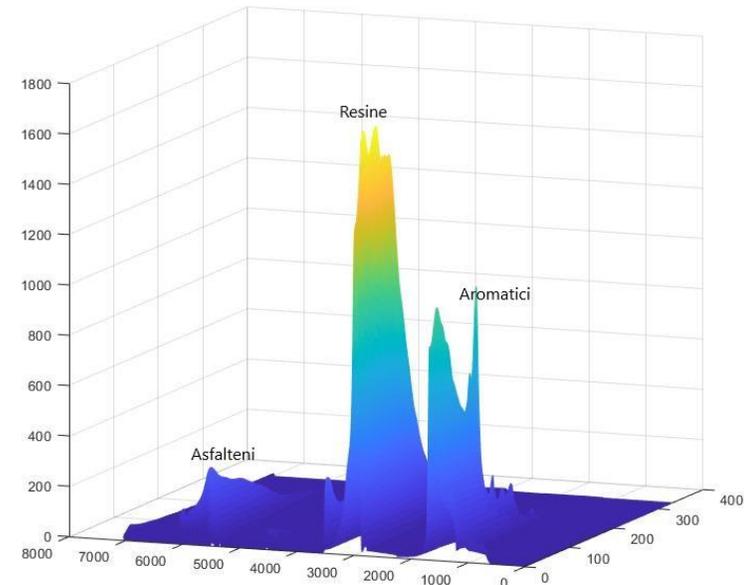
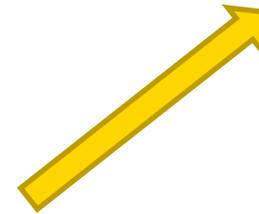
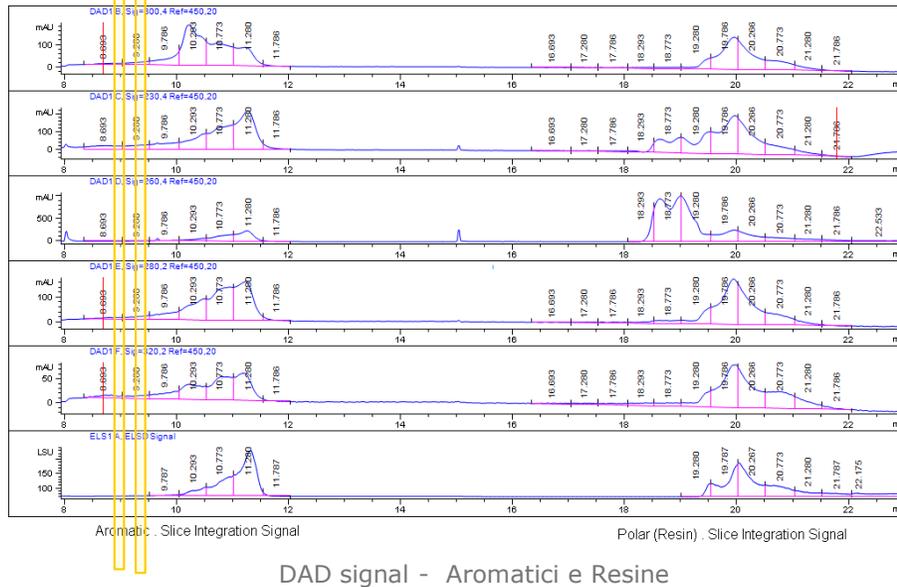


Fig.2 - Segnale DAD – vista 3D

- Diode Array Detector (DAD): (lunghezza d'onda:230 nm) quantificazione Aromatici leggeri (1 e 2 anelli) – spettro 3D da 210nm a 650nm Caratterizzazione e tipizzazione della Frazione.
- Evaporative Light Scattering Detector (ELSD): Separazione cromatografica e quantificazione Saturi, Aromatici, Resine ed Asfaltene.

Modalità di confronto – HPLC S.A.R.A - 1.0

■ Confronto matriciale artigianale via riduzione delle matrici - workflow



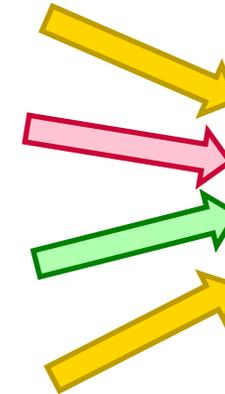
Matrice Rif. 1

Matrice Rif. 2

Matrice Rif. 3

[...]

Matrice Rif. n



Slice	DAD 230	DAD 260	DAD 280	DAD 300	DAD 320
8.0 - 8.4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8.5 - 8.9	1.40	0.73	1.68	2.01	2.88
9.0 - 9.4	2.81	2.20	2.68	3.70	4.69
9.5 - 9.9	5.88	7.42	8.39	7.80	9.34
10.0 - 10.4	9.62	9.54	11.29	13.12	13.97
10.5 - 10.9	21.56	22.65	24.87	28.32	25.82
11.0 - 11.4	48.99	49.69	45.68	40.50	37.43
11.5 - 12.0	9.94	7.77	7.13	6.48	5.97
16.0 - 16.4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16.5 - 16.9	0.45	0.00	0.45	0.84	1.28
17.0 - 17.4	0.79	0.00	0.82	1.32	1.86
17.5 - 17.9	1.35	0.00	1.59	2.16	2.90
18.0 - 18.4	2.34	7.53	2.42	3.80	3.60
18.5 - 18.9	11.19	43.71	4.80	3.76	4.85
19.0 - 19.4	28.83	28.28	22.12	20.39	19.83
19.5 - 19.9	29.87	10.27	33.38	33.80	31.17
20.0 - 20.4	17.65	6.29	21.68	22.56	21.77
20.5 - 20.9	7.80	3.62	8.45	10.01	10.18
21.0 - 21.4	1.80	1.73	2.38	2.23	2.32
21.5 - 21.9	0.33	0.77	0.60	0.38	0.32
22.0 - 22.2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Matrice Campione

Scomposizione segnale 3D del campione
5 lunghezze d'onda (lambda) di riferimento

Estrazione di
una matrice
ridotta

Database di
matrici ridotte

Confronto
matrici ridotte

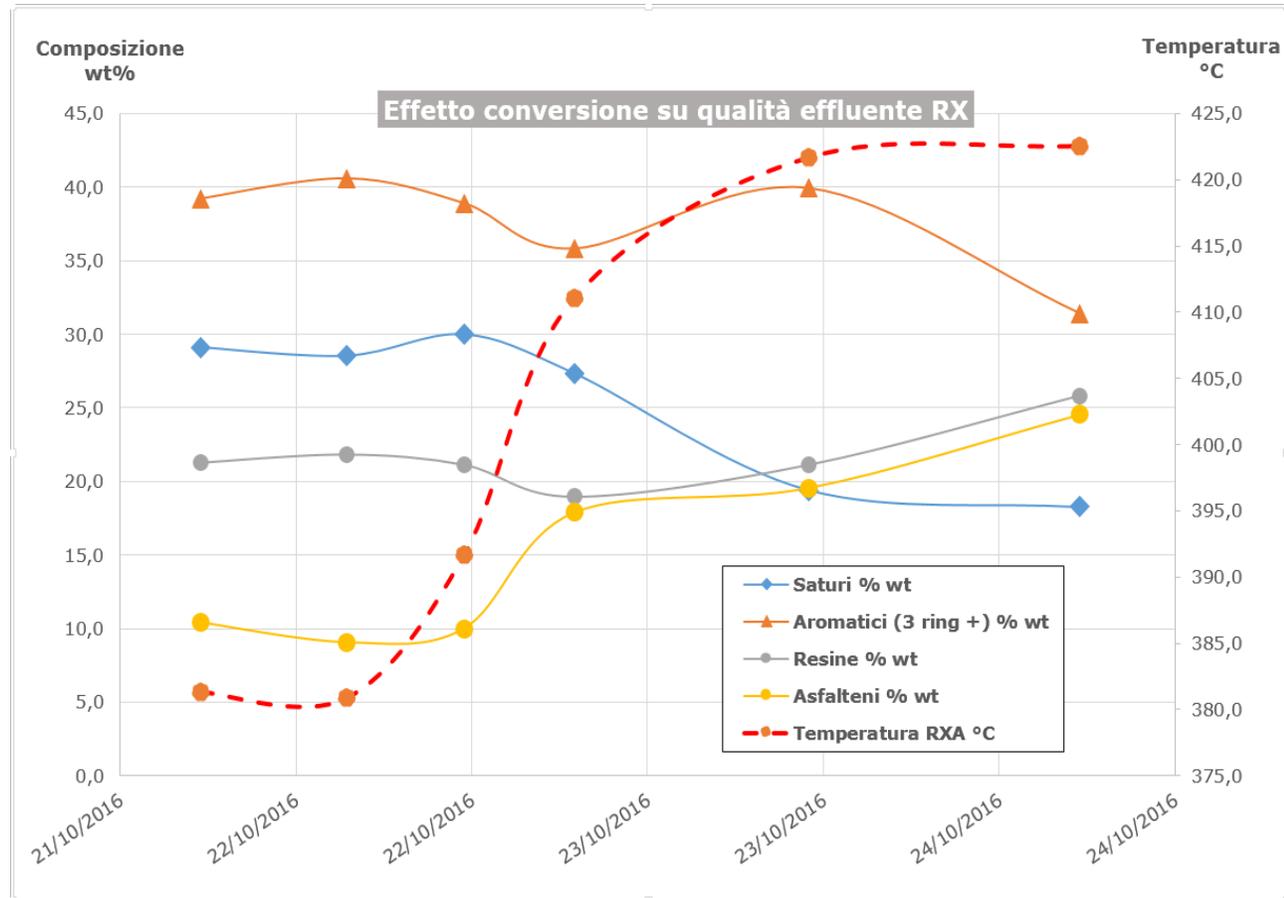
Individuazione
similarità

■ LIMITI:

- Perdita informazioni sottese ai segnali 3D;
- Difficile fornire un ranking con percentuale di verosimiglianza;
- Applicabile su un numero ridotto di campioni.



HPLC S.A.R.A : Esempio Monitoraggio Impianto



Esempio monitoraggio effluenti da Test Impianto ,
evoluzione dei prodotti al procedere della conversione.

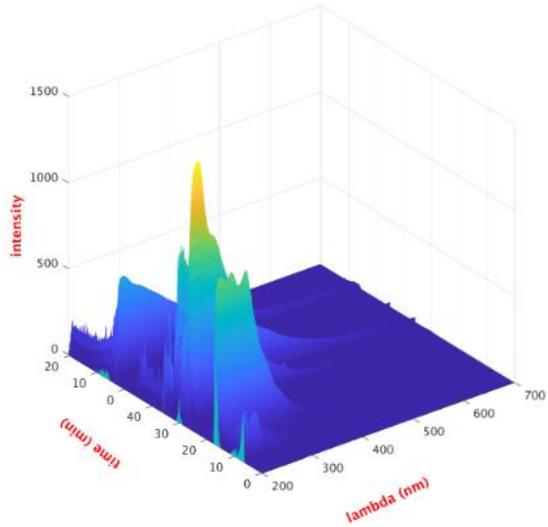
Esempio

sample name	C41108-150615		
campionato (date)	15-giu-15		
analizzato (date)	06-lug-15		
note :	nn		
sample (gr) :	0,7992		
solvent THF (gr) :	17,3961		
Dil. Factor	22,767		
			(*)
	%w ELSD	Taratura Riferimento	Indice di Riconoscimento
Saturi	20,52	C41108 - 102014	-
Aromatici light (1&2 ring)	0,00	-	-
Aromatici (3 ring +)	36,37	C41108 - 102014	2,774
Resine	25,32	C41106 - 022015	2,548
Asfalteni	16,28	C41106 - 112015	0,496
summ	98,49		
	%w norm.		
Saturi	20,84		
Aromatici light (1&2 ring)	0,00		
Aromatici (3 ring +)	36,93		
Resine	25,70		
Asfalteni	16,53		
summ	100,00		
HPLC - S.A.R.A. Custom Eni			
(*) <i>Indice di Riconoscimento</i> : Dev Stnd matrice + Var.pop matrice + Varianza segnali DAD			

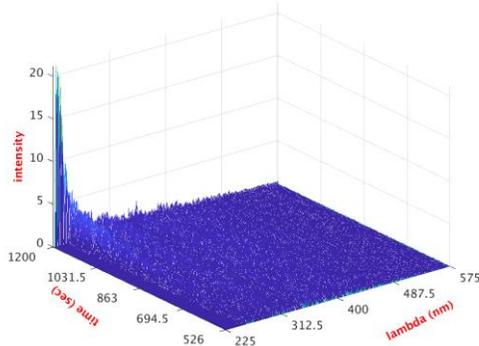
HPLC S.A.R.A.-2.0.x – Confronto campioni via elaborazione del segnale 3D numerico

- *L'evoluzione della tecnica H.P.L.C S.A.R.A. si basa sull'analisi del segnale 3D del DAD mediante un **ALGORITMO** per il riconoscimento delle frazioni.*
- *Le fasi di cui si compone l'algoritmo sono:*
 - **FASE 1 : SOTTRAZIONE DEL BIANCO;**
 - **FASE 2 : SCOMPOSIZIONE E RIPULITURA SEGNALE 3D COMPLETO;**
 - **FASE 3 : PRE-RICONOSCIMENTO – via profili ortogonali - per singola classe di composti;**
 - **FASE 4 : FINGERPRINTING – via isoipsie -per singola classe di composti.**
 - **FASE 5 : ANALISI IMMAGINI 3D** *(in fase di sviluppo)*

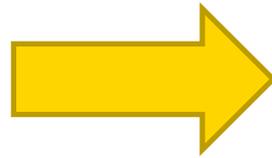
SCOMPOSIZIONE E RIPULITURA SEGNALE 3D COMPLETO



Campione

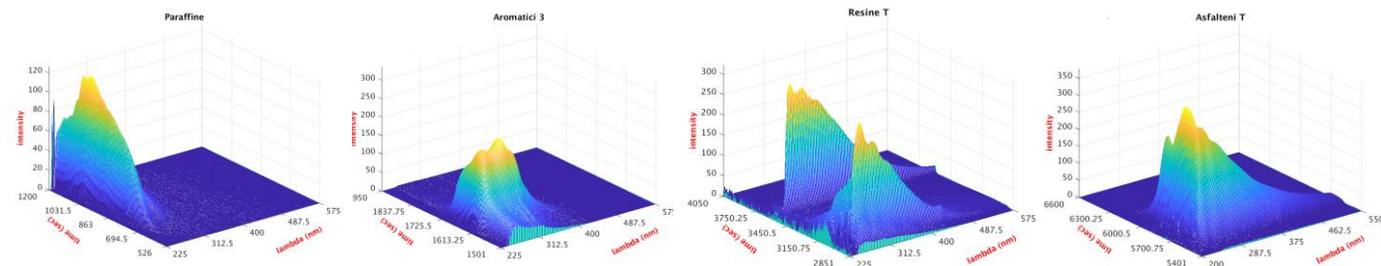


Bianco



1) FASE DI SCOMPOSIZIONE E RIPULITURA SEGNALE 3D COMPLETO:

- La matrice DAD del segnale viene scomposta secondo intervalli di tempo e lunghezza d'onda in 5 sottomatrici (Paraffine, Aromatici 1e2, Aromatici 3, Resine, Asfalteni)
- Algoritmo di FILTRATURA SEGNALE 3D
 - 1 – Eliminazione rumore di fondo: Soglia minima di segnale, ovvero linea di base 3D
 - 2 – Eliminazione spike: Soglia di riempimento
 - 3 – Individuazione del segnale: Soglia Elementi NON ZERO: un segnale deve essere costituito da una matrice numerica consistente



RISULTATO FASE 1 e 2 :

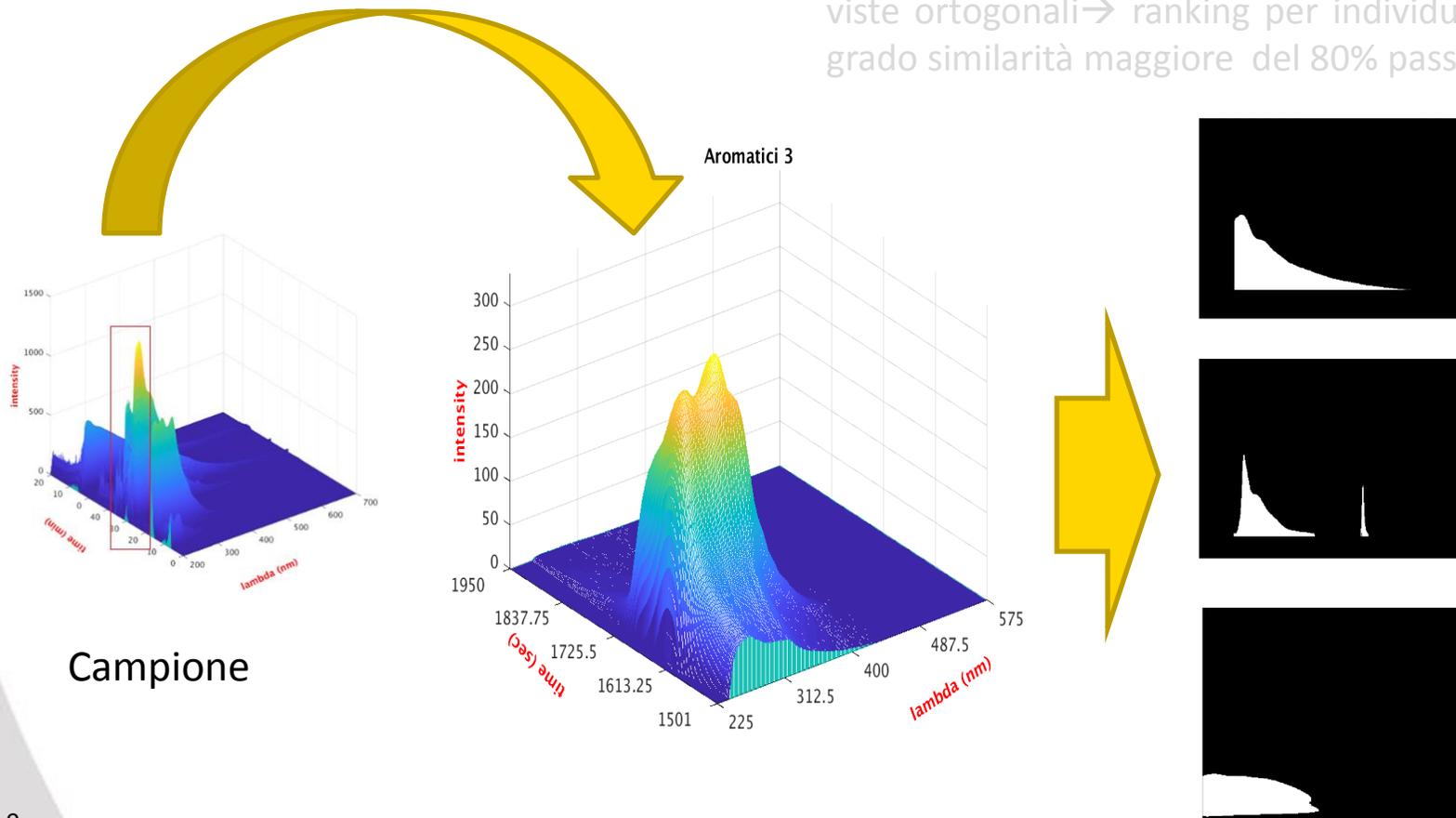
Immagini dei Segnali-3D singole Frazioni ripuliti



PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

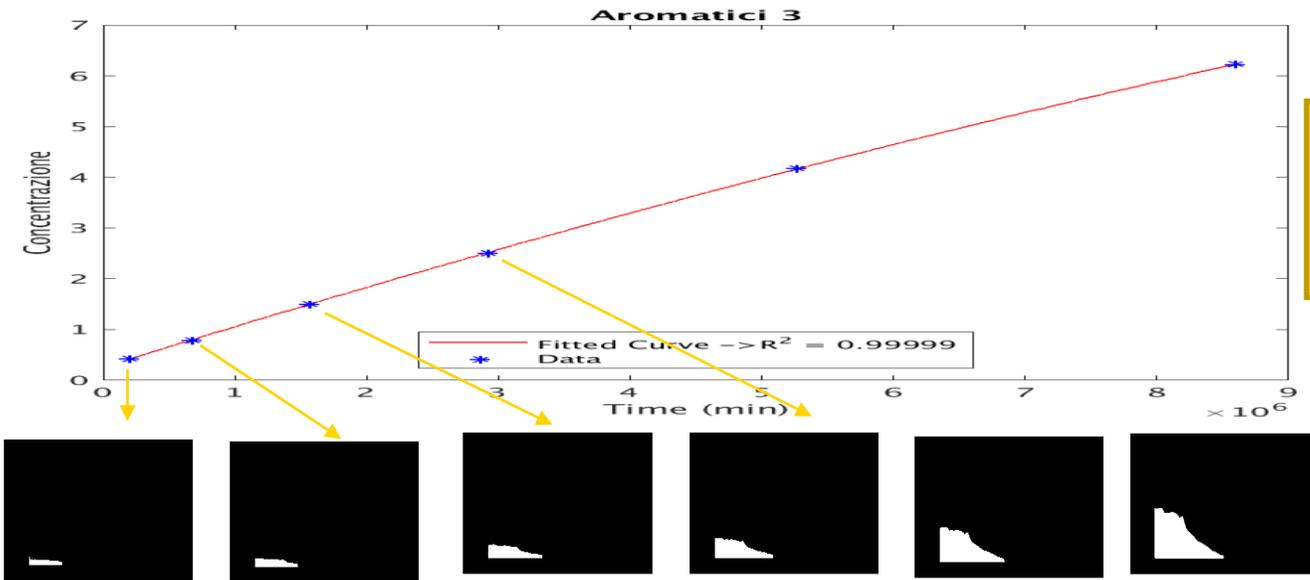
2) FASE DI PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

- Calcolo dei profili secondo le 3 viste ortogonali (X , Y e Z) per ogni frazione.
- Confronto dei profili per pre-riconoscimento attraverso sovrapposibilità delle 3 viste ortogonali → ranking per individuare riferimenti e campione. Quelli con un grado similarità maggiore del 80% passano allo step successivo



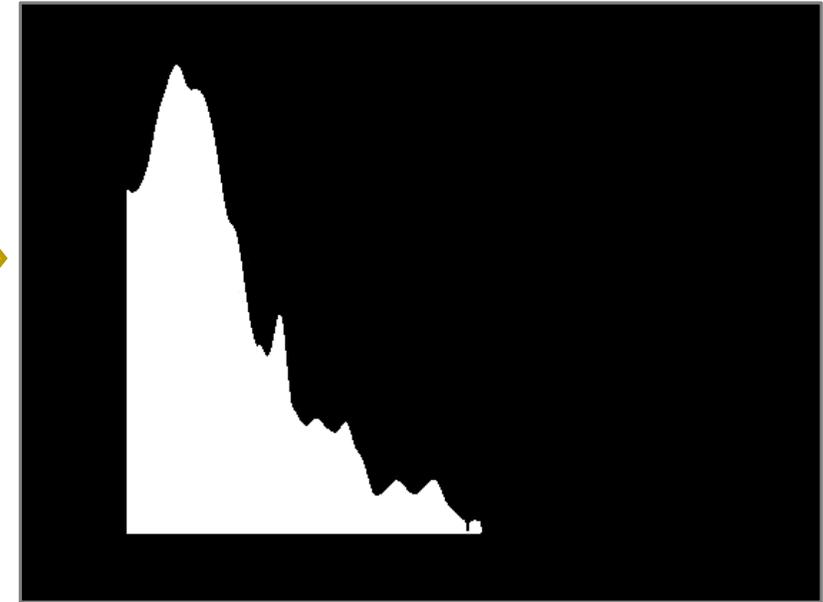
PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

- Taratura segnale ELSD CLASSICA (concentrazione vs segnale), Riferimento taratura n. 1 a taratura n.6 – frazione Aromatici



Incremento viste ortogonali

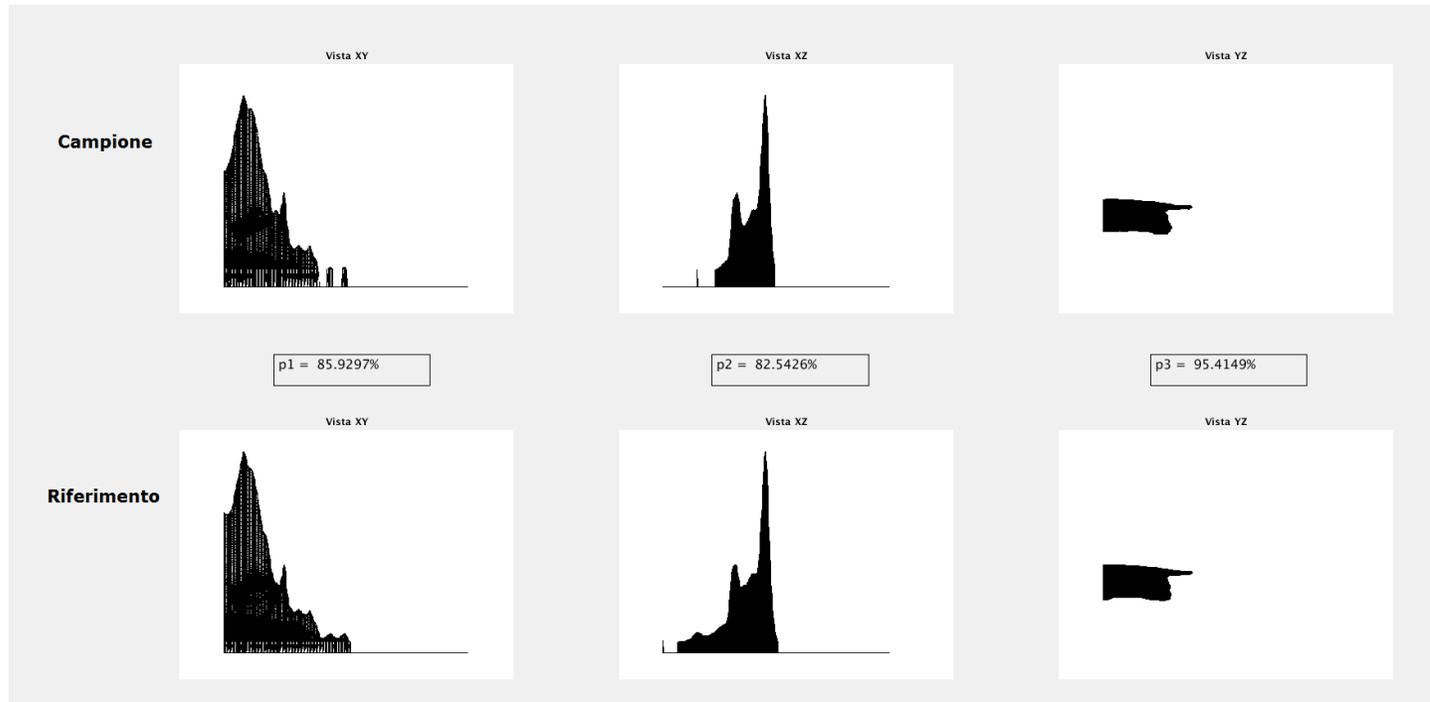
VIDEO



- Estrazione Viste Ortogonali segnale-DAD, per i diversi punti di taratura di un riferimento - frazione Aromatici, (ex. Vista XZ).

- Morphing viste per creazione di TARATURA VIRTUALE A 100 punti

PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti



Profili segnale DAD - 3 viste ortogonali

2) FASE DI PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

- Calcolo dei profili secondo le 3 viste ortogonali (X, Y e Z) per ogni frazione.
- Confronto dei profili per pre-riconoscimento attraverso sovrapposibilità delle 3 viste ortogonali → ranking per individuare riferimenti e campione. Quelli con un grado di similarità maggiore del 80% passano allo step successivo

PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

DataBase Viste dei Riferimenti



Taratura 100 punti immagine ortogonale Frazione - **Riferimento 1**



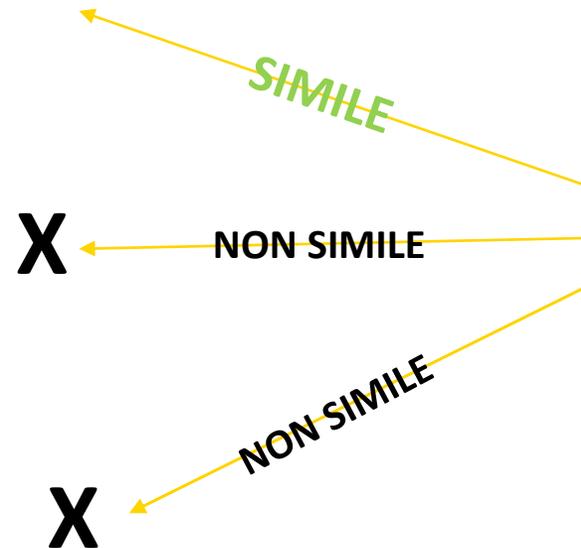
Taratura 100 punti immagine ortogonale Frazione - **Riferimento 2**



Taratura 100 punti immagine ortogonale Frazione - **Riferimento 3**

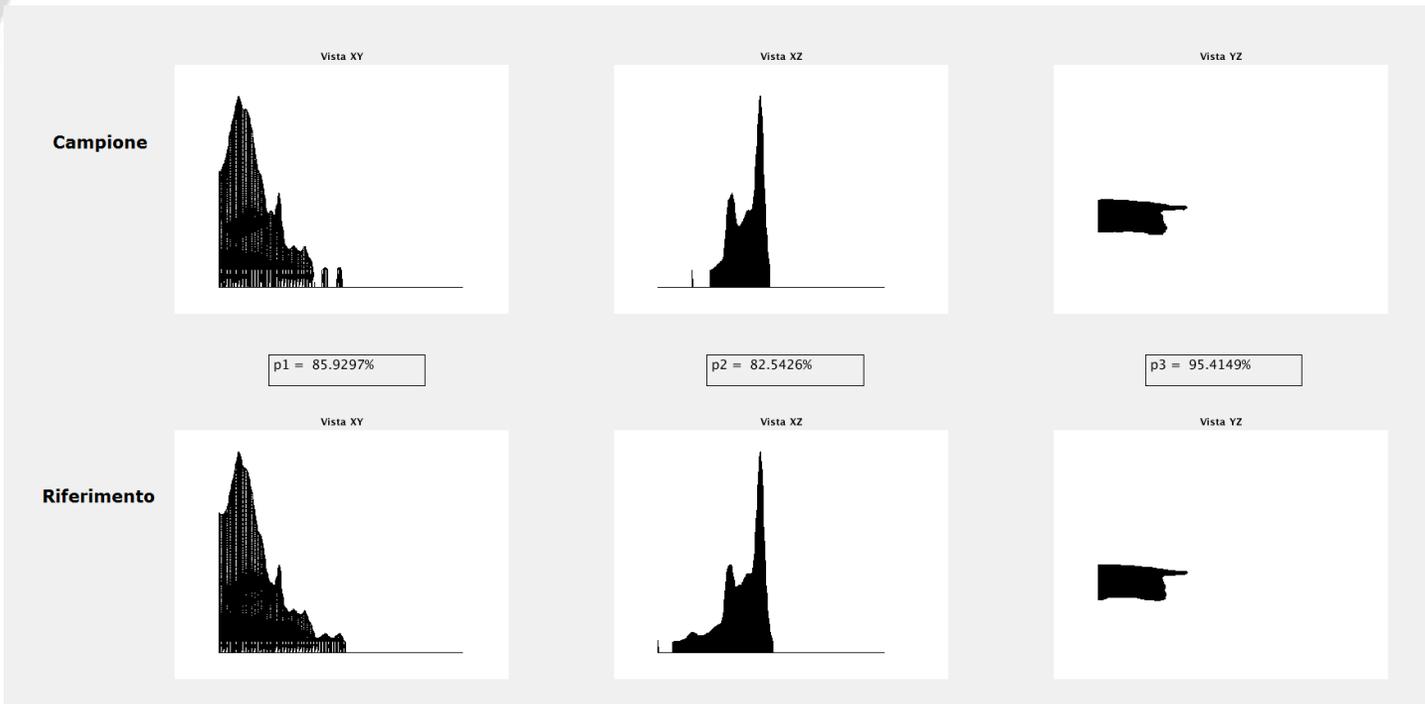


Immagine ortogonale del campione

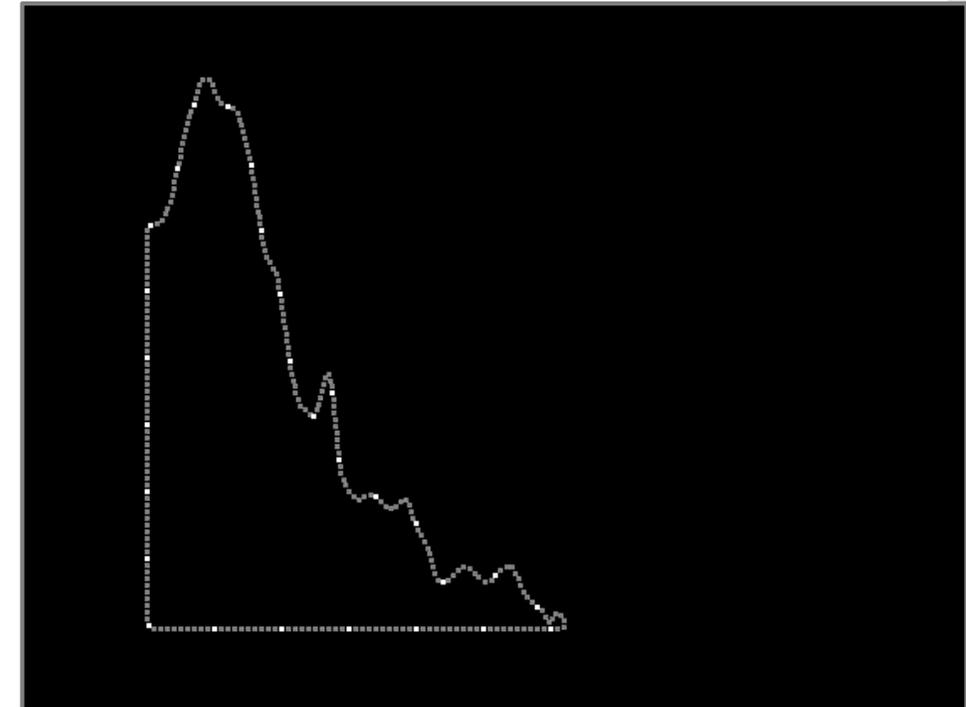


PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

VIDEO



Profili segnale DAD - 3 viste ortogonali



Morphing viste

2) FASE DI PRE-RICONOSCIMENTO per singola classe di composti

- Calcolo dei profili secondo le 3 viste ortogonali (X, Y e Z) per ogni frazione.
- Confronto dei profili per pre-riconoscimento attraverso sovrapponibilità delle 3 viste ortogonali

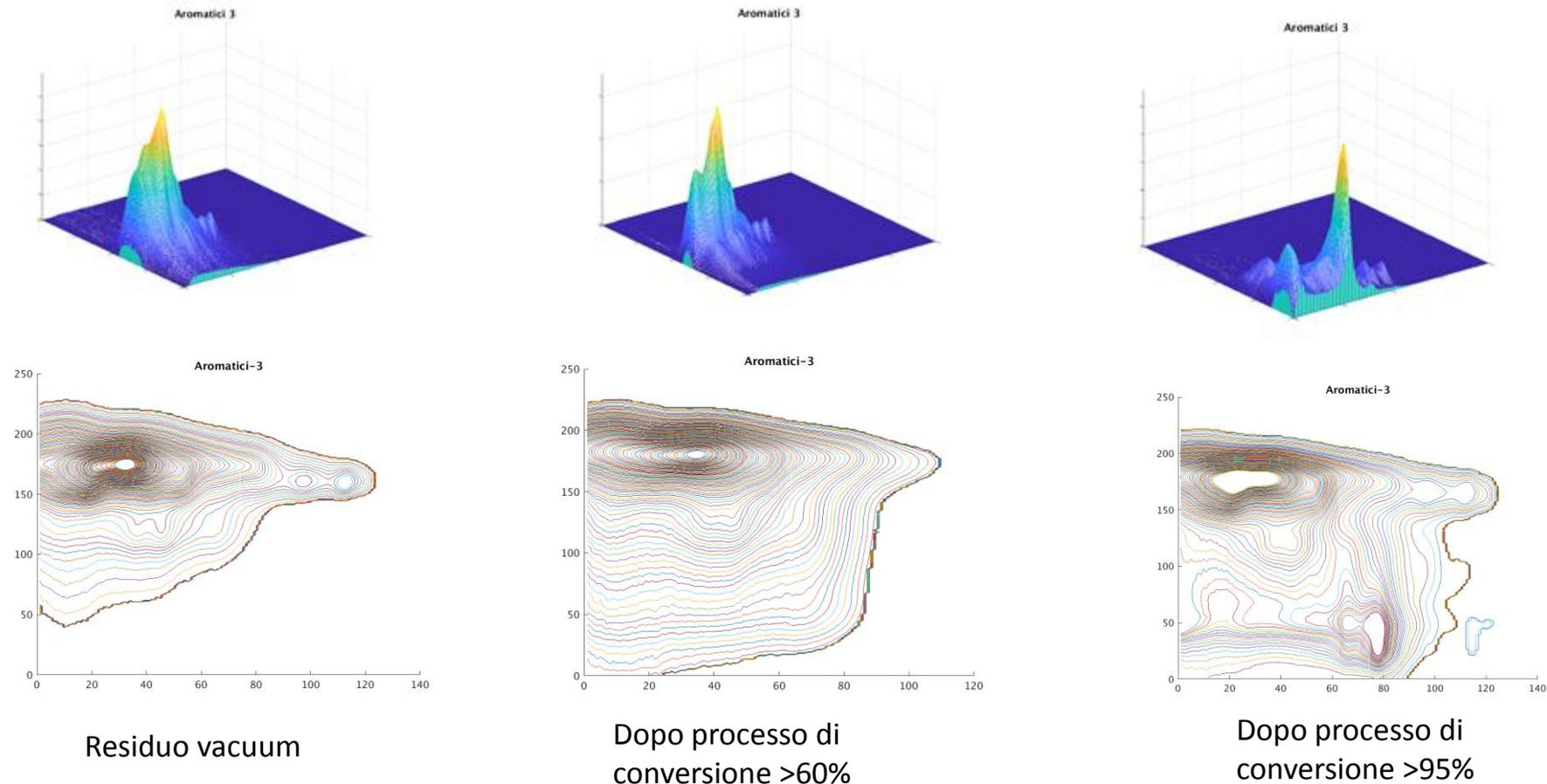
RISULTATO FASE 2:

Formulazione di un Ranking di similarità Campione- Riferimento per singola Classe di Composti

FINGERPRINTING

3) FASE DI FINGERPRINTING

- Estrazione mappa Isoipsie dal segnale 3d filtrato
- Calcolo di indici caratteristici delle Isoipsie (Perimetro, Area, Centroide) utilizzati per calcolo dell'indice avanzato di sovrapposibilità delle matrici 3D.
- Individuazione dell'Indice di Riconoscimento della Matrice



FINGERPRINTING: Al cambiare della concentrazione cambia la forma delle ISOIPSIE?

Validazione dei segnali 3D

Verifica della Riproducibilità del segnale a varia concentrazione, costruzione di grafici ad isoipsie costanti.

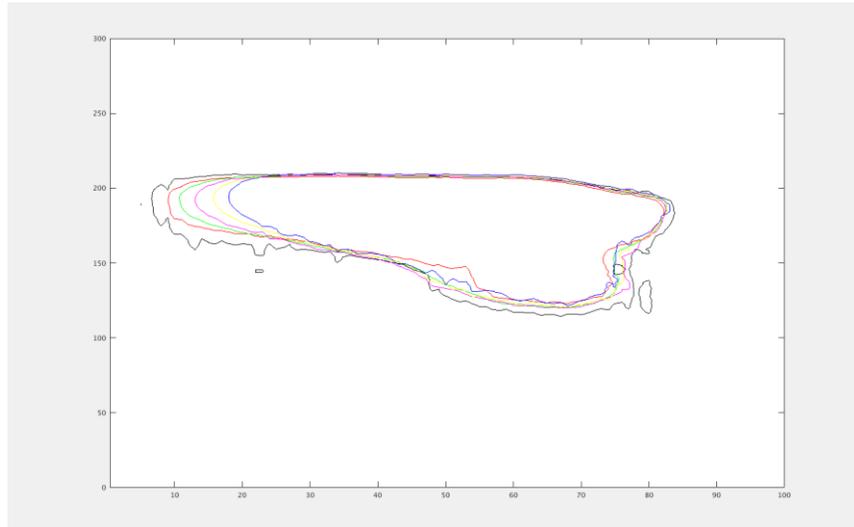
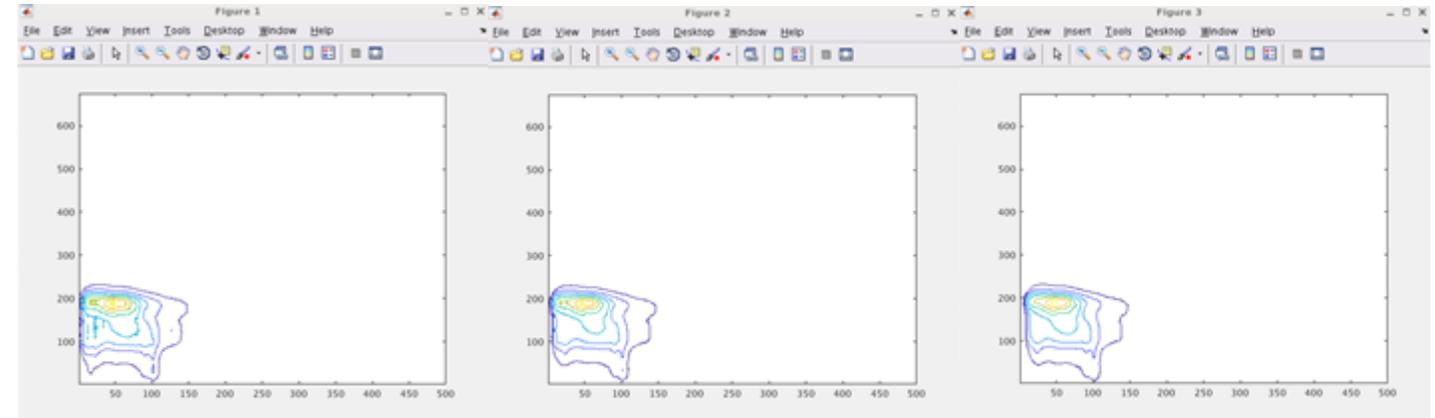


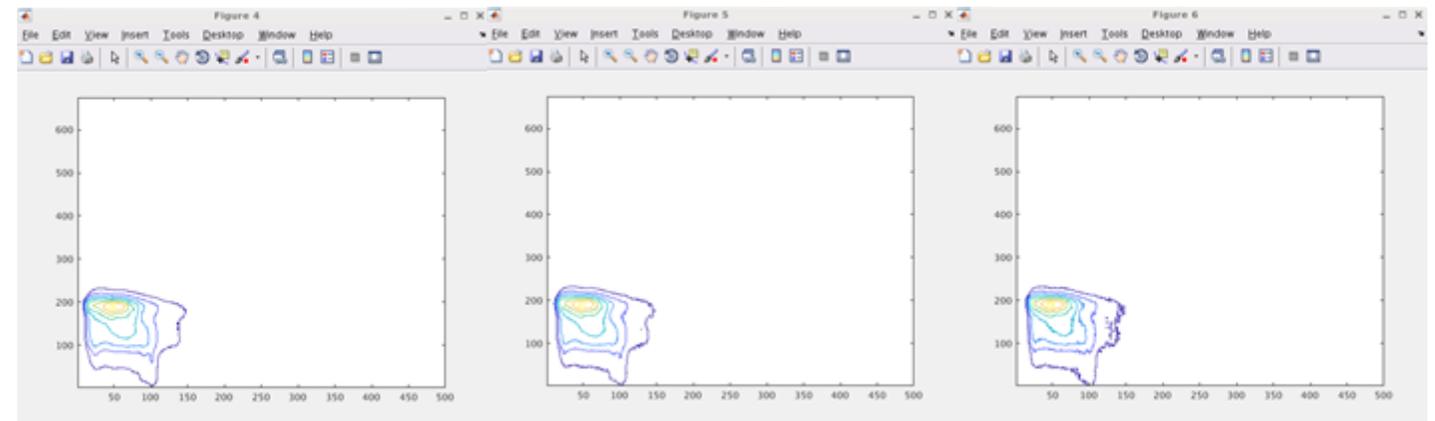
Fig. rappresenta Isoipse a indice di livello costante che risultano sovrapponibili nella **forma** al variare della concentrazione corrispondente al n. di Taratura.



Taratura n.1

Taratura n.2

Taratura n.3



Taratura n.4

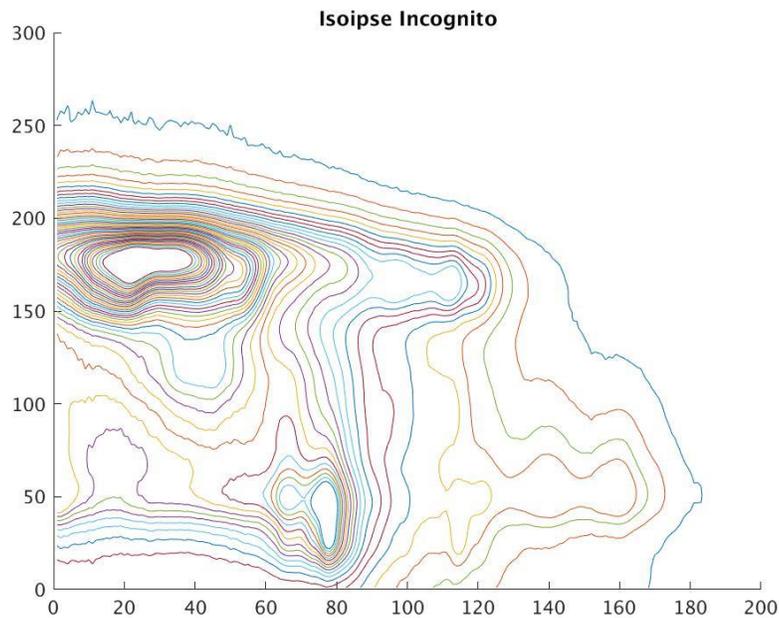
Taratura n.5

Taratura n.6

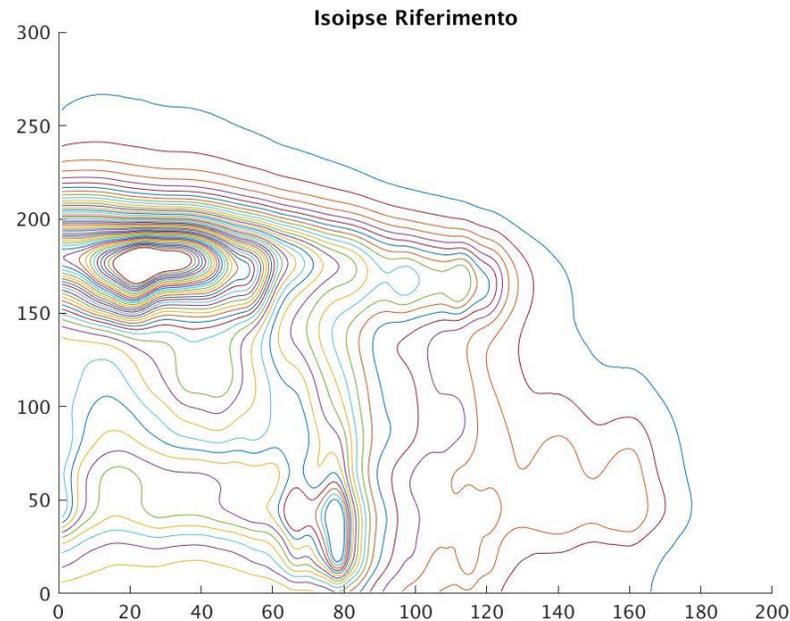
FINGERPRINTING – Confronto Riconoscimento via Isoipsie

Confronto Contorni Aromatici.3

- Confronto tra campione Ricostruito (Incognito) e Livello Taratura (Riferimento).



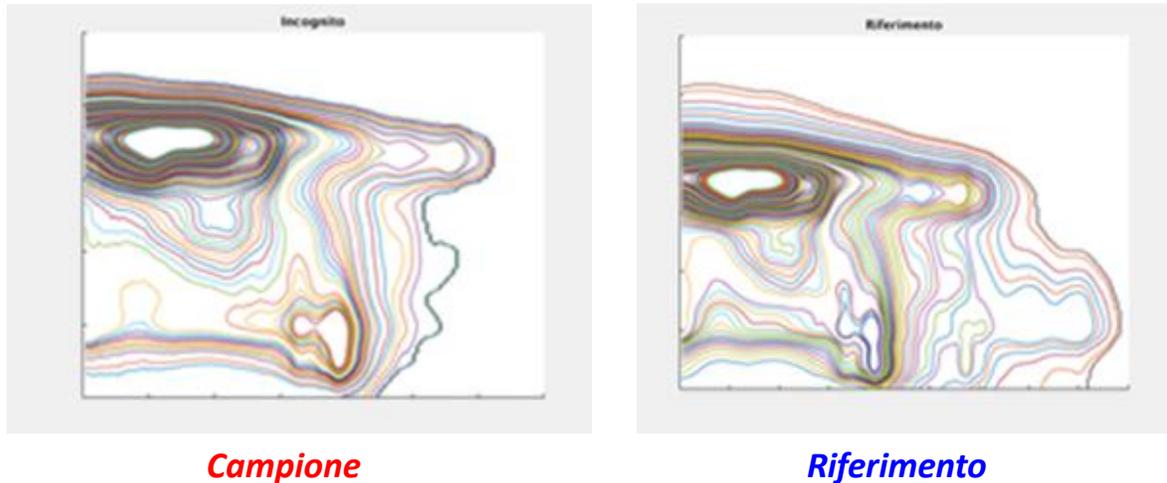
- *Analisi HPLC-SARA del 2018
Campione ricostruito da
frazioni ASTM-d2007*



- *Analisi HPLC-SARA del 2017
Campione tal quale*

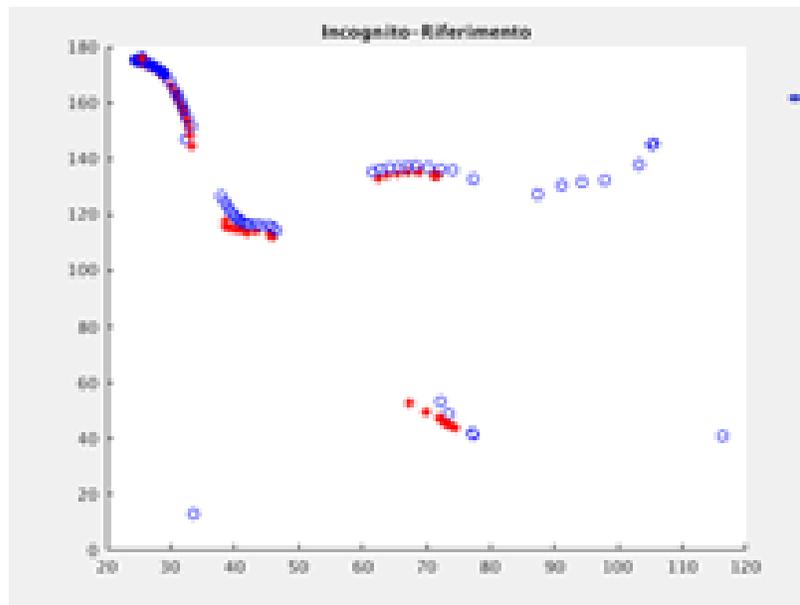
- Segnale 3D Curve di Livello
- Il filtri applicati ai segnali hanno poca influenza sui segnali “buoni” ma eliminano quelli spuri e quelli corrispondenti a mero rumore di fondo.
- Il confronto avviene cercando il livello di diluizione del Riferimento **con intensità del picco** più vicina a quella del grezzo incognito. Si riscala il segnale utilizzando l’algoritmo di morphing precedentemente validato con i riferimenti.

FINGERPRINTING - Confronto tra Riferimento e Campione Ricostruito



Campione

Riferimento



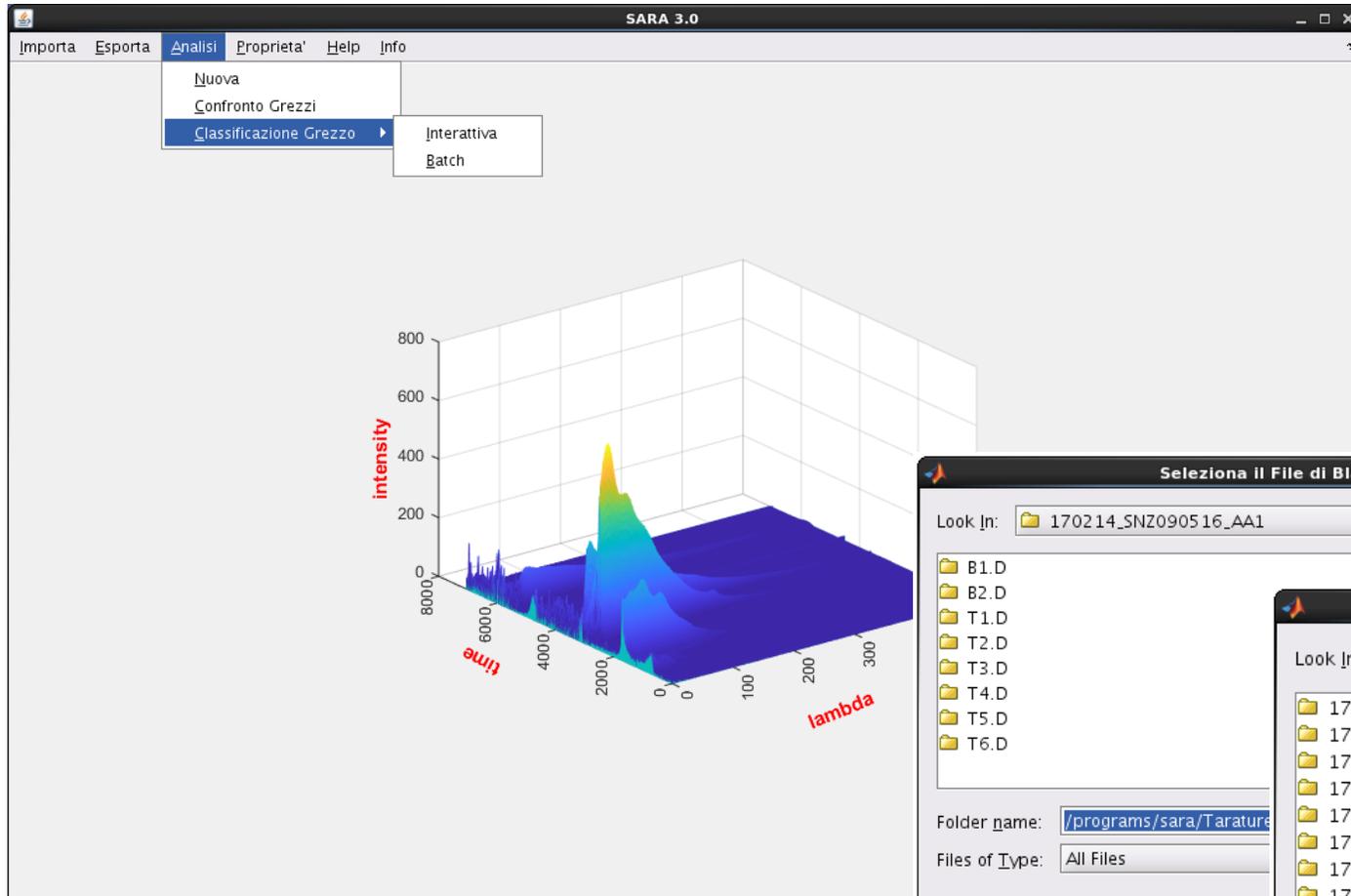
Sovrapposizione posizione centroidi

3) FASE DI FINGERPRINTING

- Estrazione mappa Isoipsie dal segnale 3d filtrato
- Calcolo di indici caratteristici delle Isoipsie (Perimetro, Area, Centroide) utilizzati per calcolo dell'indice avanzato di sovrapposibilità delle matrici 3D.
 - Forma delle isoipsie;
 - Perimetro e area
 - Posizione centroidi .
- Individuazione dell'Indice di Riconoscimento della Matrice

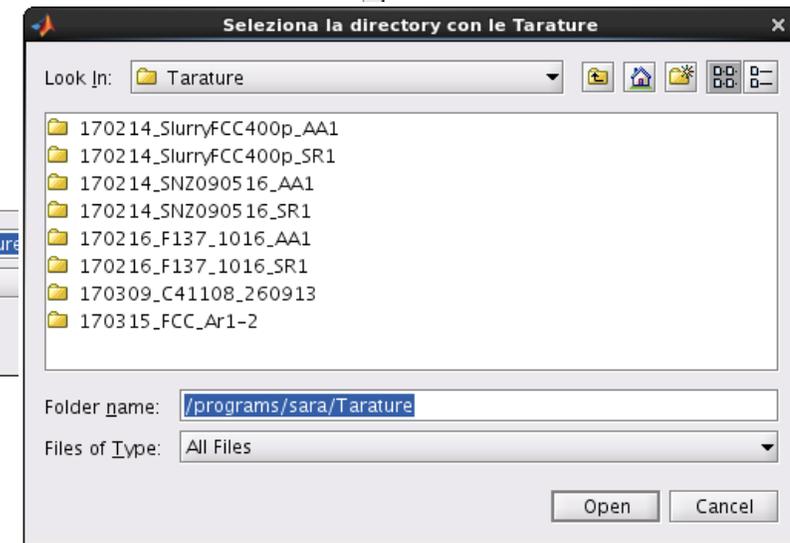
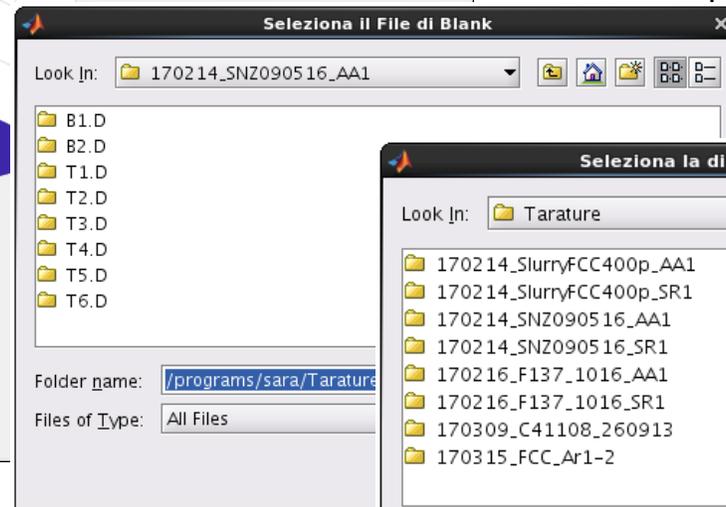
RISULTATO FASE 3:
Indice di similarità con il Riferimento

HPLC S.A.R.A.-2.0 Interfaccia utente



Sviluppo di un' interfaccia utente che consente in modo 'user friendly' di attivare routine per l'elaborazione e l'interpretazione del segnale prodotto da Analisi HPLC-SARA al fine di ottenere :

- Effettuare un confronto di campioni e valutare il grado di scostamento/riproducibilità rispetto a campione Standard
- Indice di Somiglianza con Riferimenti Noti precedentemente acquisiti .
- La quantificazione dei prodotti (Saturi-Aromatici-Asfaltini)

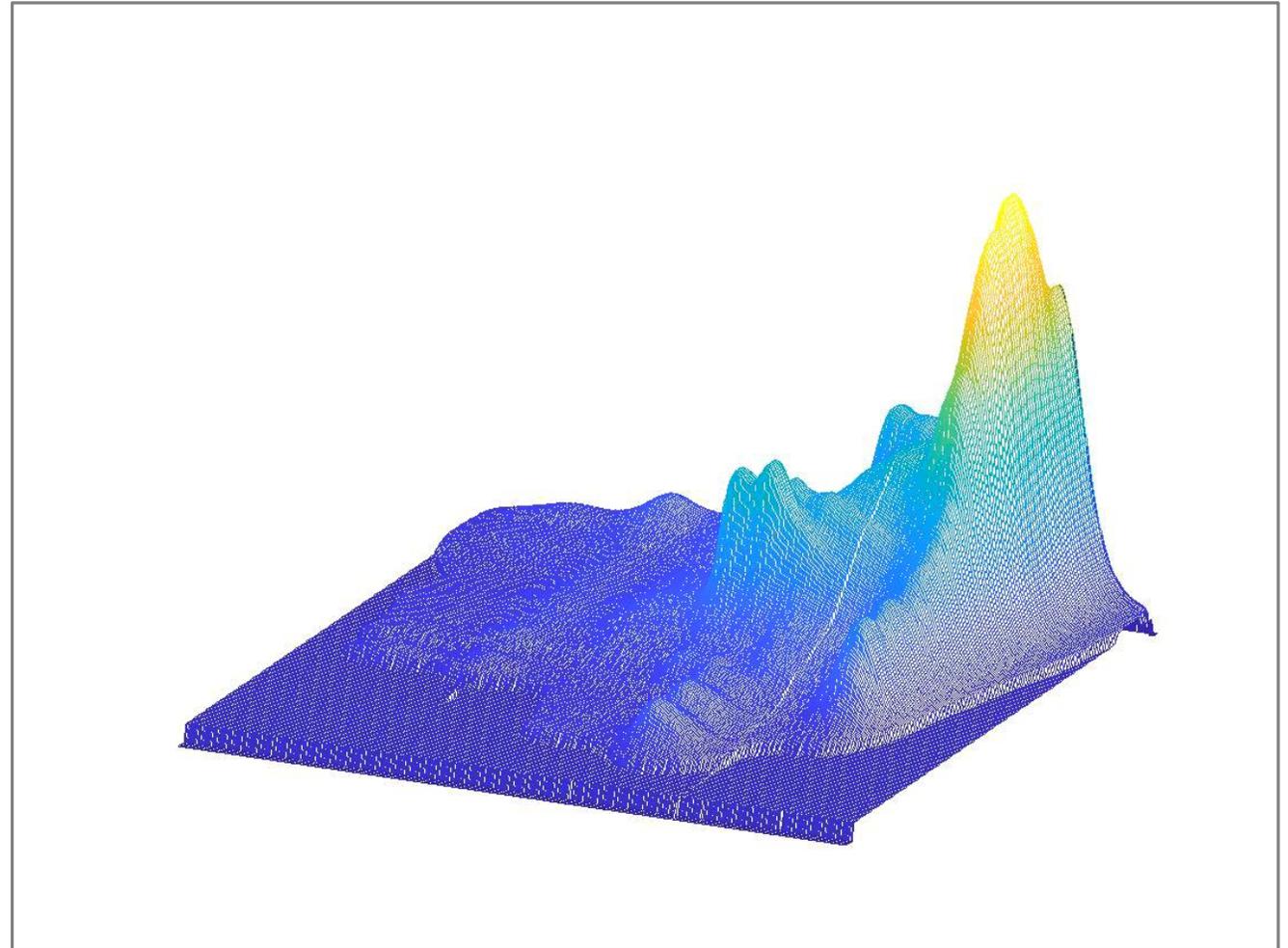


Attualmente in fase di validazione.
(HPLC S.A.R.A.-2.0 – Beta Version)



- Morphing Immagine 3D del riferimento individuato attraverso pre-riconoscimento viste ortogonali fino ad avere un segnale paragonabile al campione incognito .
- Confronto di immagine attraverso sovrapposizione immagine incognito con immagine riferimento rimodulata con algoritmo di morphing , riconoscimento basato sull'algoritmo **ant colony optimization** (ACO) adattato per l'utilizzo.

In fase di sviluppo , per essere integrato all'algoritmo di riconoscimento.



HPLC S.A.R.A.-2.1 Allineamento macchine strumento

- Algoritmo di allineamento strumentale

Allo studio un Metodo che permetterà di utilizzare un unico DataBase contenente Immagini di riferimento atte il riconoscimento delle frazioni analizzate per strumenti con la medesima configurazione .

*In fase di sviluppo , per essere integrato
all'algoritmo di riconoscimento.*



Conclusioni

- HPLC S.A.R.A è un metodo di analisi che permette di quantificare classi di composti in residui atmosferici o grezzi pesanti.
- L'implementazione dell'algoritmo di Pre-riconoscimento da SARA-1.0 a SARA-2.0 ha notevolmente incrementato l'indice di identificazione nel data-base di riferimenti disponibile.
- L'algoritmo di Fingerprinting sull'analisi di Immagine 3D permette una maggiore individuazione e tipizzazione di ogni frazione analizzata .
- Algoritmo di Allineamento permetterà l'utilizzo di acquisizioni effettuate con differenti strumenti ma con la medesima configurazione, la creazione di un database comune.

Grazie per l'attenzione!

Q&A session

