



КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



Руководитель Проекта:
д.х.н., проф. Клочков В.В.
(КФУ) (h индекс = 11)

"ЯМР высокого разрешения нефти и
продуктов нефтехимического синтеза"

Лаборатория "ЯМР-Структура"

Проект "Качественный и
количественный состав нефти и
нефтепродуктов"

vladimir.klochkov@kpfu.ru



Отв. исполнитель: м.н.с.,
к.ф.-м.н., Рахматуллин И.З.
(КФУ) (h индекс = 2)



Задачи, решаемые методами ЯМР спектроскопии

- Идентификация химического состава органических и биоорганических соединений в различных средах
- Изучение пространственного строения, конформационных свойств и внутримолекулярной подвижности органических и биоорганических соединений в различных растворителях и лиотропных жидкокристаллических средах
- Исследование механизмов и кинетики химических реакций
- Исследование пространственного строения органических и биоорганических соединений в твердой фазе



Открытие метода ЯМР спектроскопии

3

Нобелевская премия по физике в 1952 году была присуждена Феликсу Блоху (Стенфордский университет) и Эдварду Перселлу (Гарвардский университет) «за развитие новых методов для ядерных магнитных измерений».

E.M.Purcell, H.G.Torrey, R.V.Pound, *Phys.Rev.*, **1946**, 69, 37;
F.Bloch, W.Hansen, M.E.Packard, *Phys.Rev.*, **1946**, 69, 127.



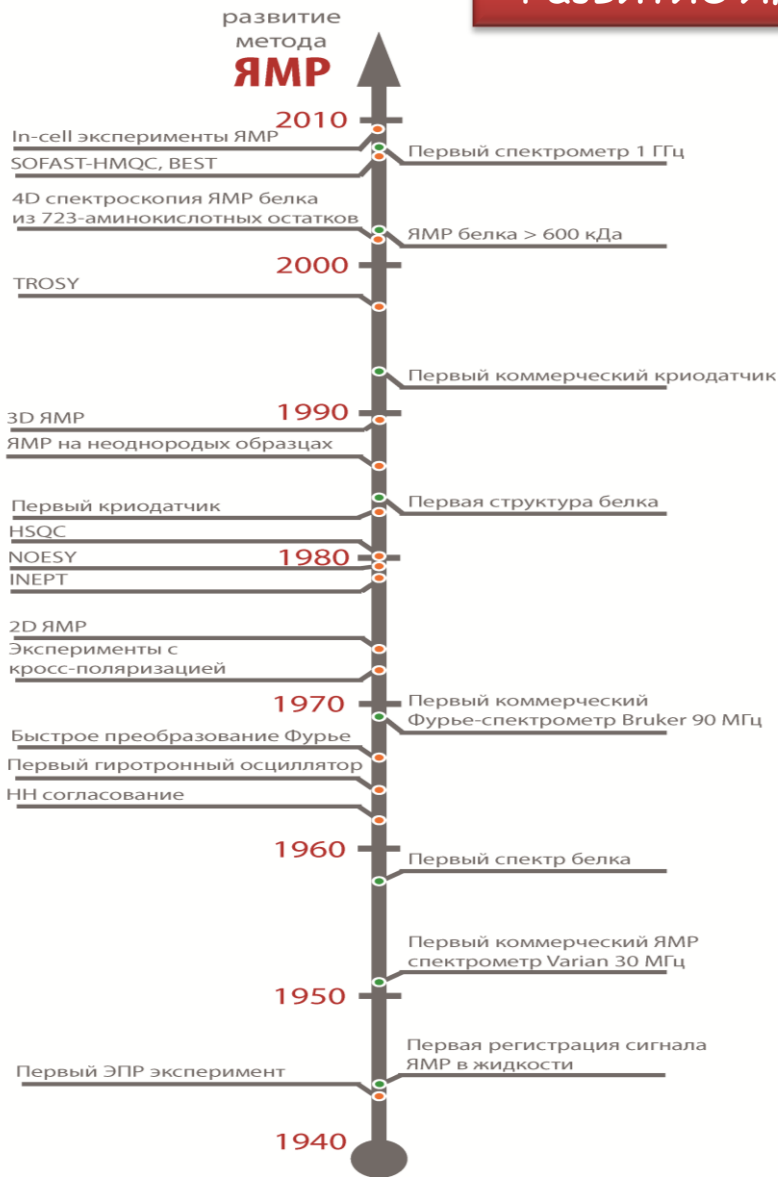
Феликс Блох (1905–1983)



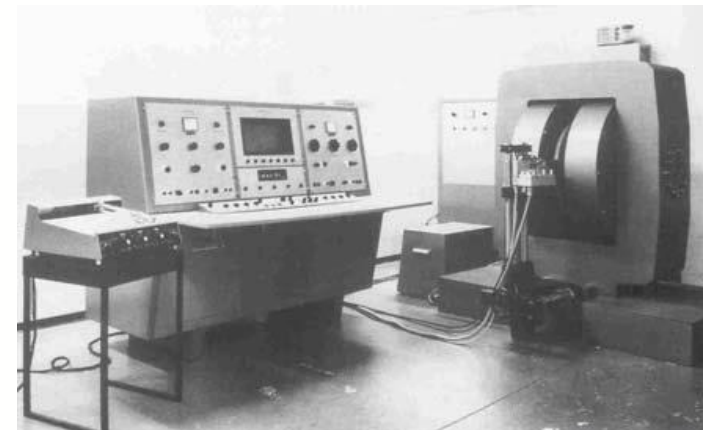
Эдвард Миллс Перселл (1912 – 1997)



Развитие ЯМР спектроскопии



“Varian” – 900 МГц; USA, 2009

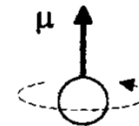
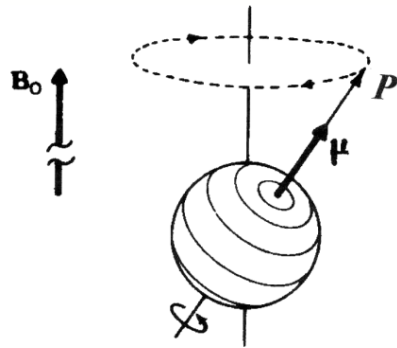


“Bruker” – 60 МГц; Germany, 1967

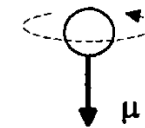
Принципы эксперимента ЯМР

$I = 1/2$

$^1\text{H}, ^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}, ^{31}\text{P} \dots$

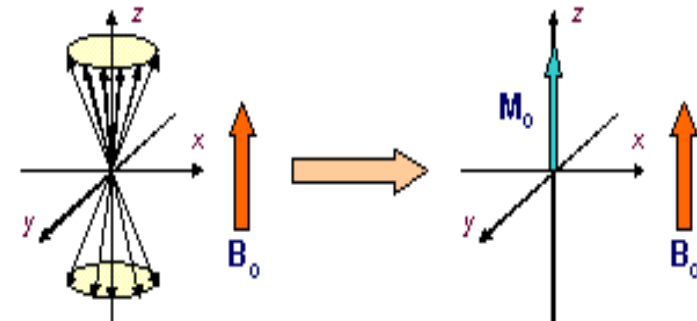
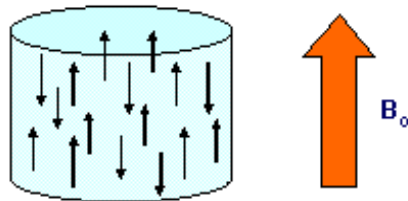


$m = +1/2$



$m = -1/2$

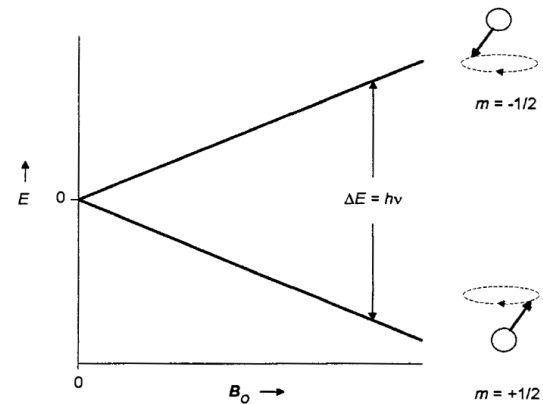
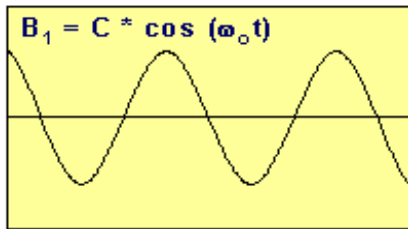
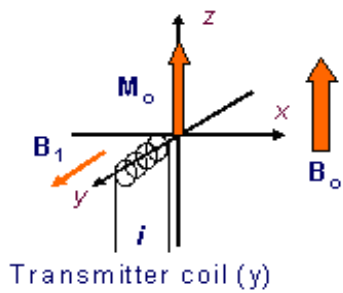
$$E = -m\gamma \hbar B_0$$



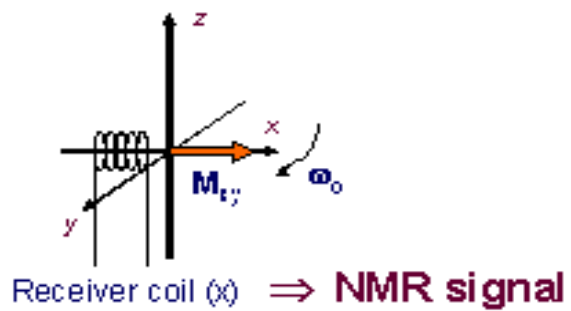
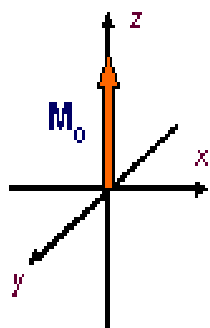
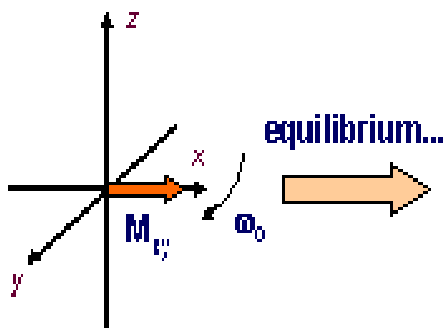
$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\Delta E/k_B T} \approx 1 - \frac{\Delta E}{k_B T} = 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{k_B T}$$



Принципы эксперимента ЯМР

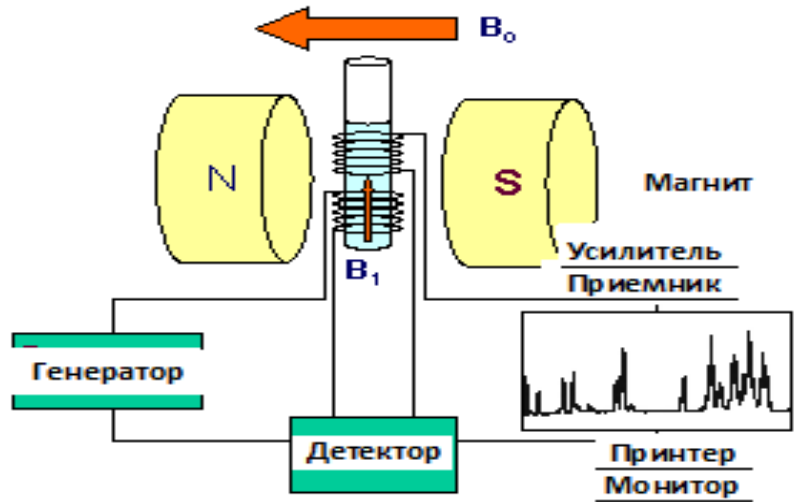


$$h\nu_1 = \Delta E$$



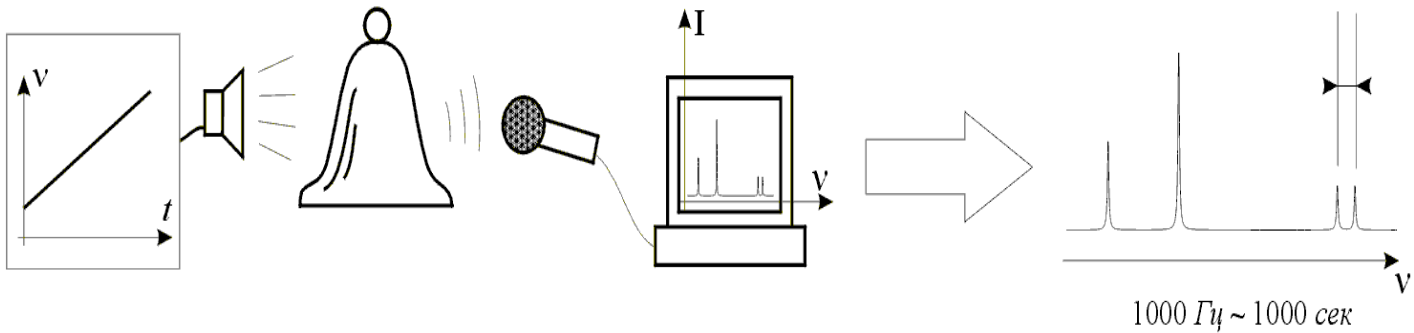


Классический эксперимент ЯМР



непрерывная развертка

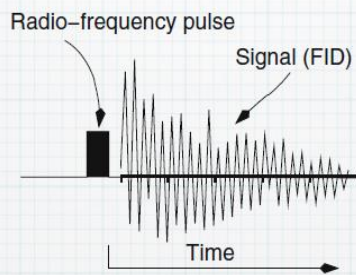
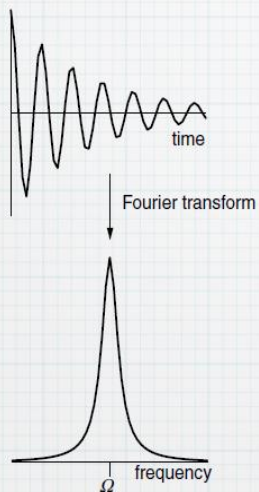
скорость развертки
 $\Delta\nu = 1 \text{ Гц} \Rightarrow \Delta E = h \Delta\nu \Rightarrow \Delta t > 1 \text{ сек}$





Принципы импульсного эксперимента ЯМР

1976 — Ричард Эрнст: Фурье спектроскопия ЯМР



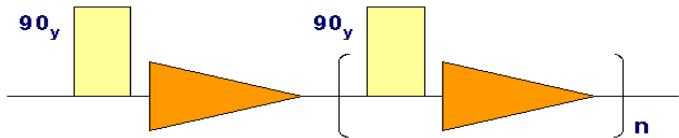
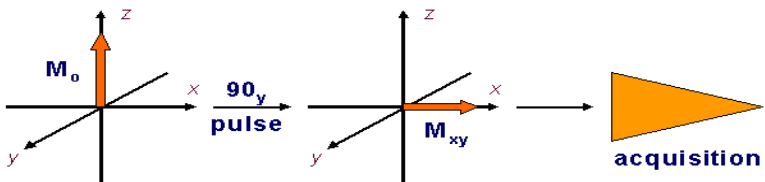
Импульсный спектрометр:

- 1) Возбуждаем систему
- 2) Регистрируем СИ
- 3) После Фурье-преобразования получаем спектр

Нобелевская премия по химии 1991 года



Принципы импульсного эксперимента ЯМР

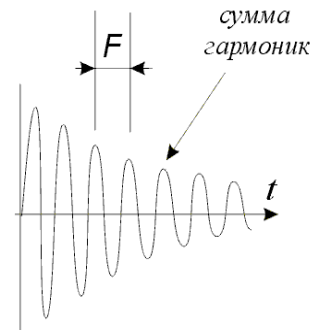
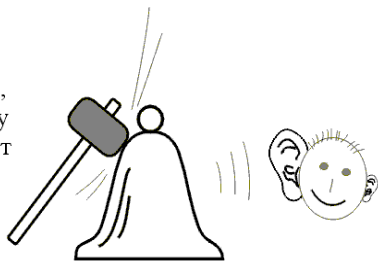


$$S(\omega) = \int s(t) \exp(-i\omega t) dt$$

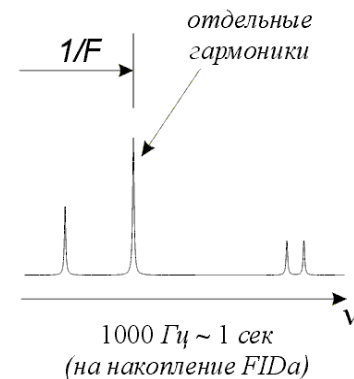
импульсный метод

чем короче импульс,
тем большую полосу
частот он возбуждает

Гейзенберг $\Delta E \Delta t \sim h$
 $\Delta \nu = \Delta E / h \sim 1 / \Delta t$



FT

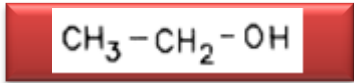
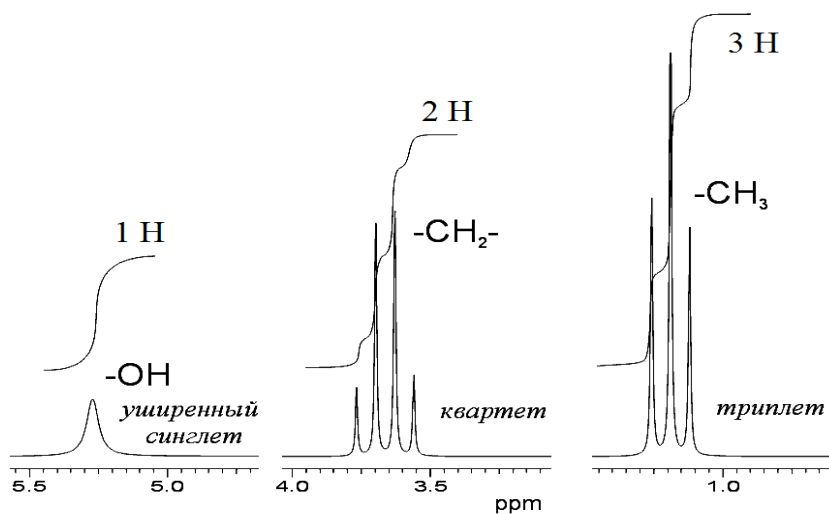


релаксация:
FID падает
экспоненциально



Измеряемые параметры ЯМР

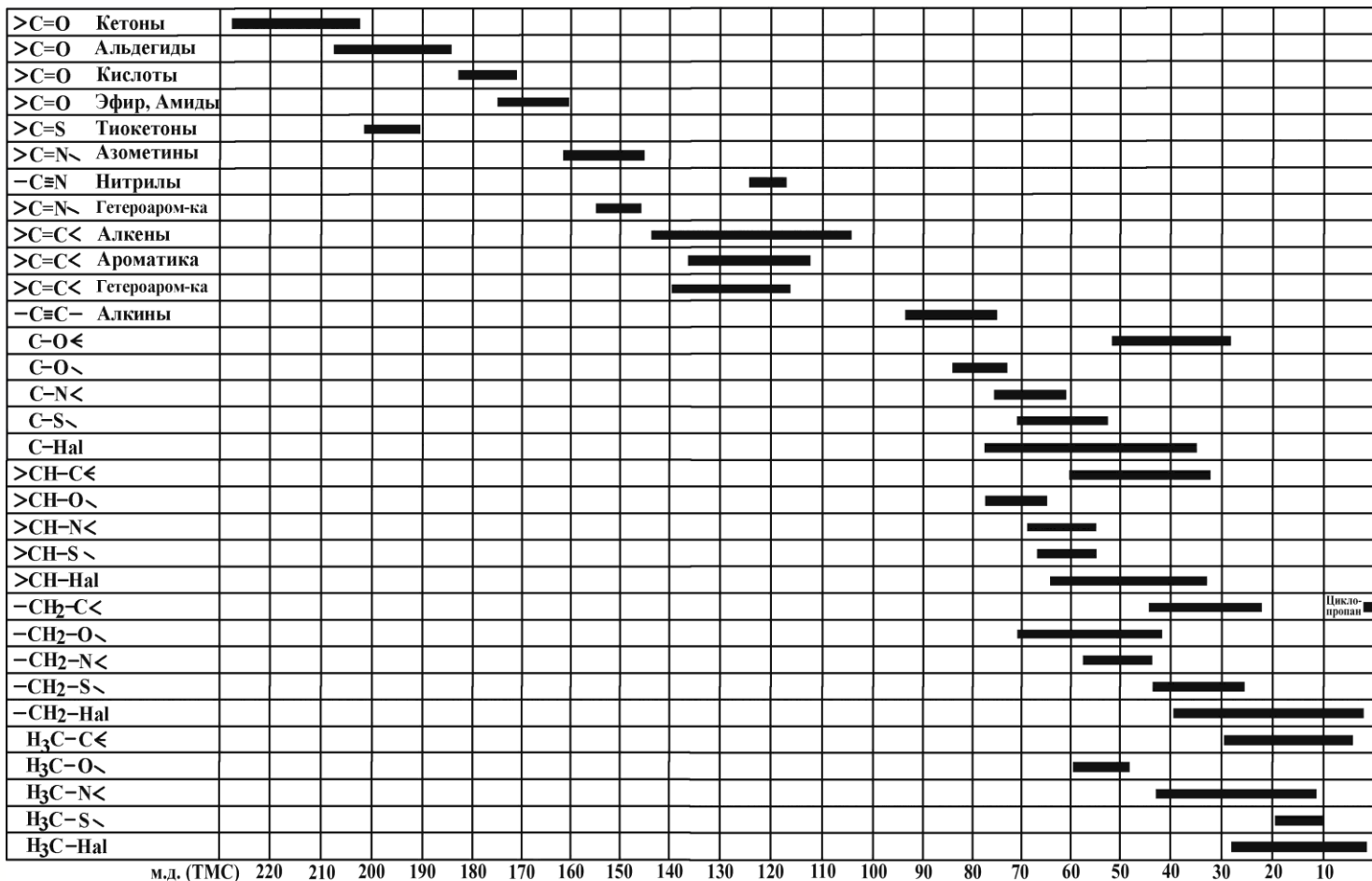
- химические сдвиги ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P и т.д.;
- интегральные интенсивности сигналов;
- константы спин-спинового взаимодействия ;
- ядерные эффекты Оверхаузера;
- форма сигналов, ширины линий, времена релаксации ядер, кросс-релаксация



Спектр ЯМР ^1H (90 МГц) этилового спирта

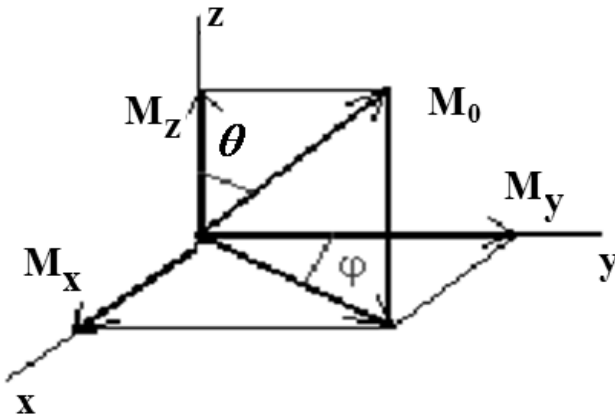


Химические сдвиги ^1H , и ^{13}C в ЯМР спектроскопии



Химические сдвиги ЯМР ^{13}C в органических соединениях.

Спин-спиновая и спин-решеточная релаксация в ЯМР спектроскопии



Если постоянное магнитное поле B_0 однородно, то поведение вектора намагниченности M_0 после окончания действия импульса определяется процессами релаксации, т.е. спиновая система возвращается к равновесному состоянию посредством релаксации ($M_z \rightarrow M_0$, а M_x и $M_y \rightarrow 0$).

Блох показал, что релаксационные процессы имеют первый порядок и могут быть описаны двумя различными временами релаксации T_1 и T_2 :

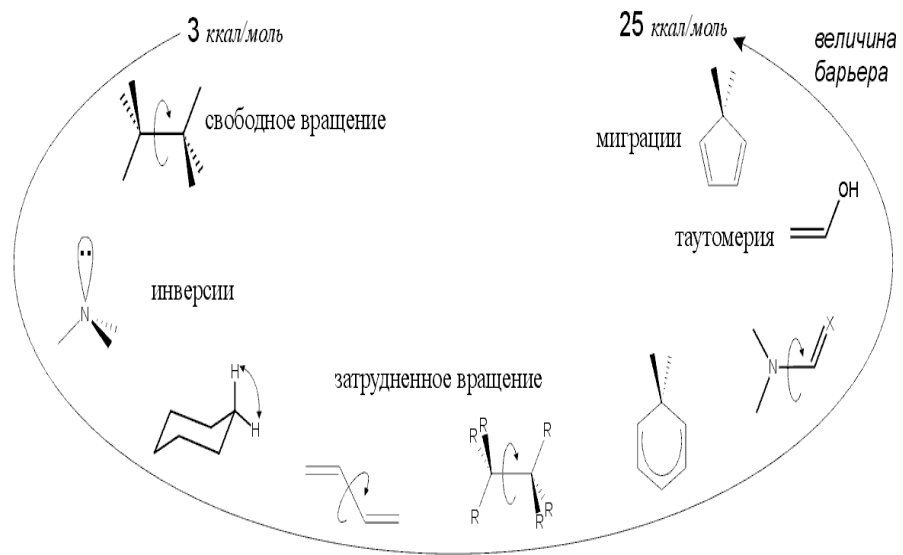
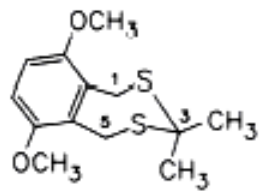
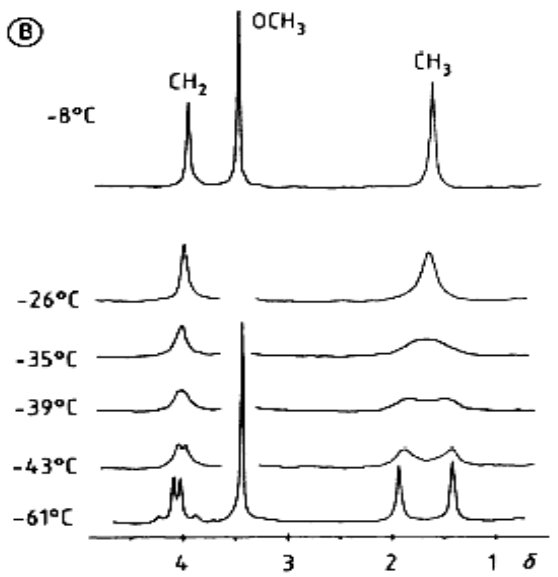
$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}$$

$$\frac{dM_{x'}}{dt} = -\frac{M_{x'}}{T_2}$$

$$\frac{dM_{y'}}{dt} = -\frac{M_{y'}}{T_2}$$

где T_1 - время спин-решеточной или продольной релаксации, а T_2 - время спин-спиновой или поперечной релаксации.

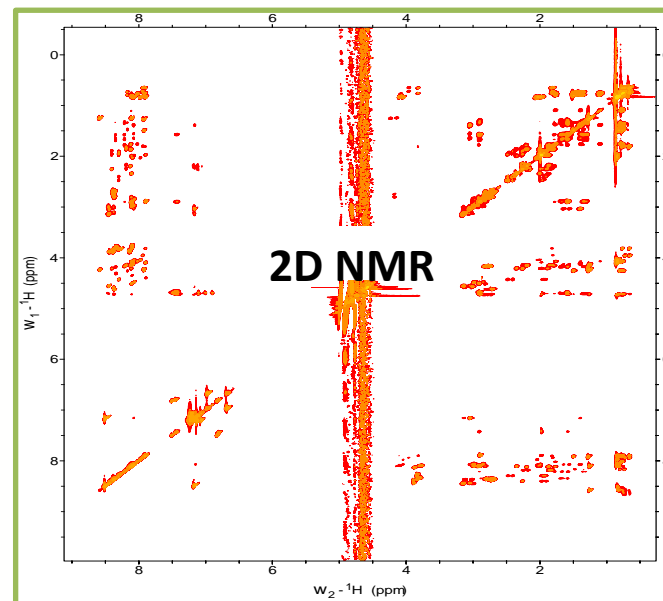
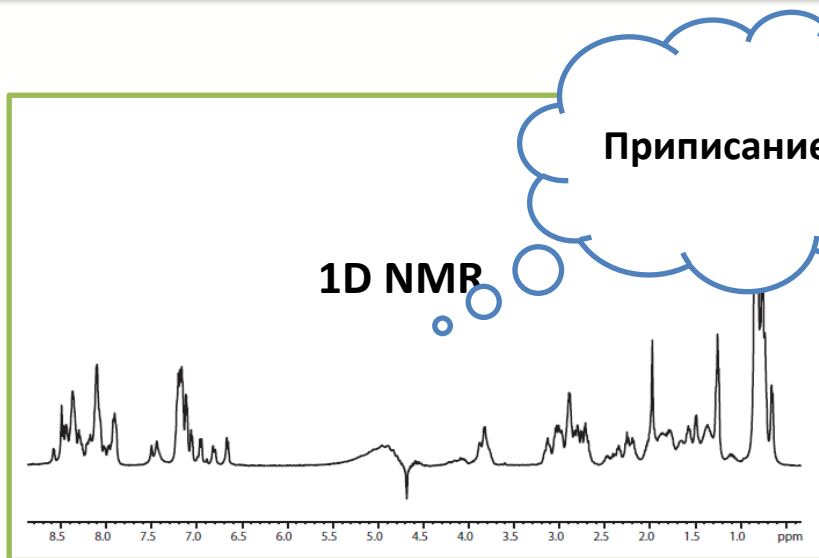
Динамическая ЯМР спектроскопия



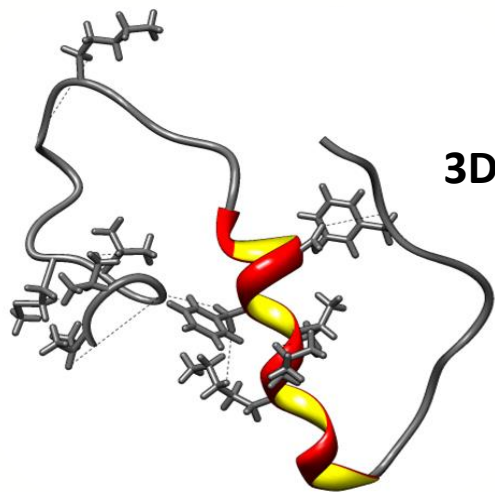
$$K = x [(k_b \cdot T) / h] \exp(-\Delta G^\ddagger / RT)$$



ЯМР спектроскопия сложных органических и биоорганических соединений



Регистрация 1D и 2D (^1H - ^1H , ^1H - ^{13}C) спектров ЯМР

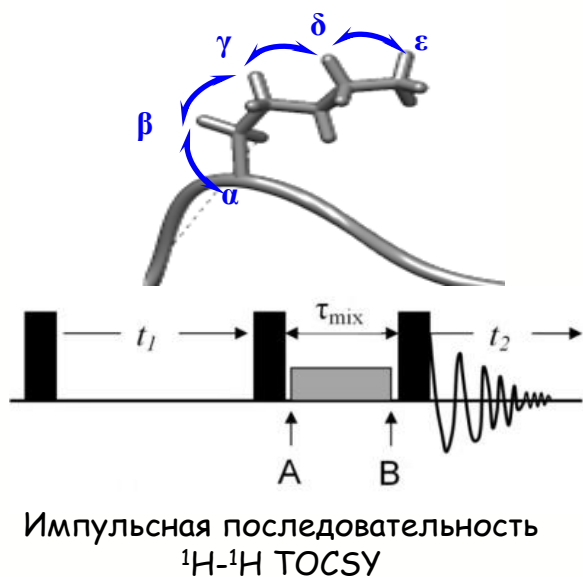


Отнесения сигналов в спектрах ЯМР проводится с помощью методик на основе 2D ^1H - ^1H COSY, TOCSY и ^1H - ^1H NOESY спектроскопии; сигналы ядер ^{13}C - 2D ^1H - ^{13}C HSQC, HMQC эксперименты.

Полученные экспериментальные данные о межпротонных расстояниях, константах спин-спиновой и остаточного диполь-дипольного взаимодействий используются в качестве входных данных для расчета пространственной структуры пептидов.

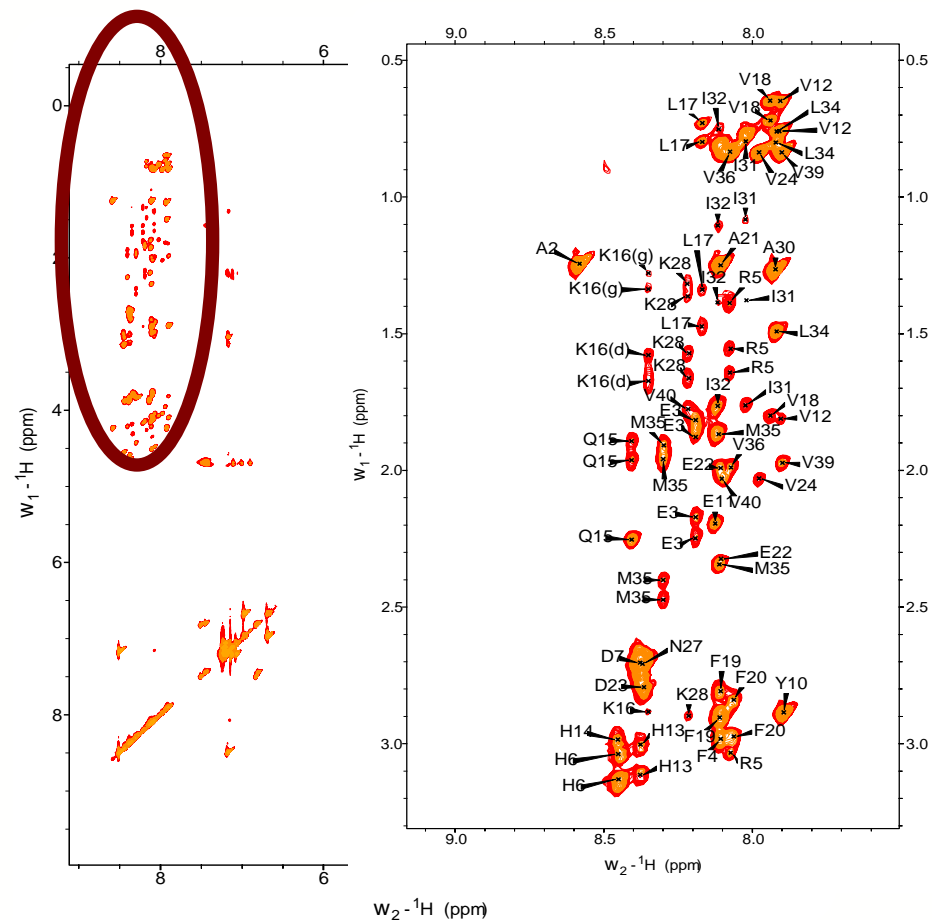
Результат – координаты атомов в формате .pdb

^1H - ^1H TOCSY (Total correlation spectroscopy)



Аминокислотная последовательность $\text{A}\beta_{1-40}$

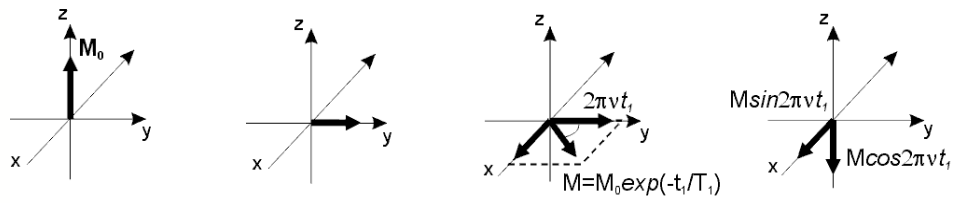
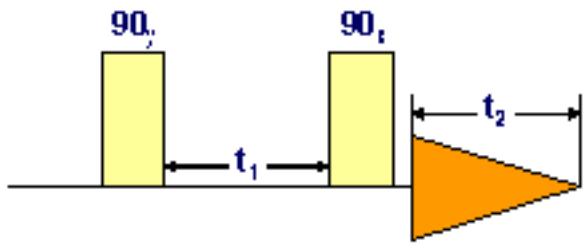
DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV



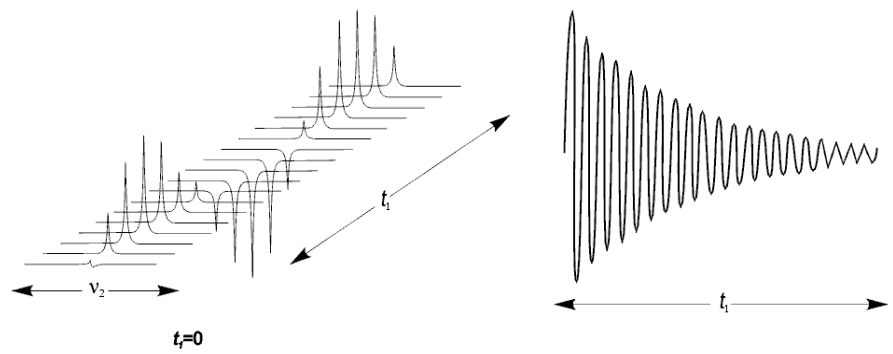
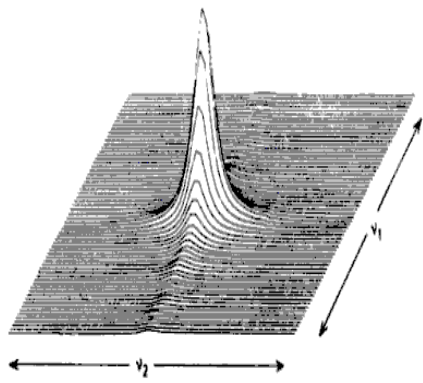
Двумерный ^1H - ^1H TOCSY спектр ЯМР бета-амилоида $\text{A}\beta_{1-40}$ в растворе 20 мМ фосфатного буфера при pH 7.3 (95% H_2O +5% D_2O); T = 293 K.

2D корреляционные ЯМР эксперименты

Двумерная ЯМР спектроскопия (1H-1H COSY модификация)



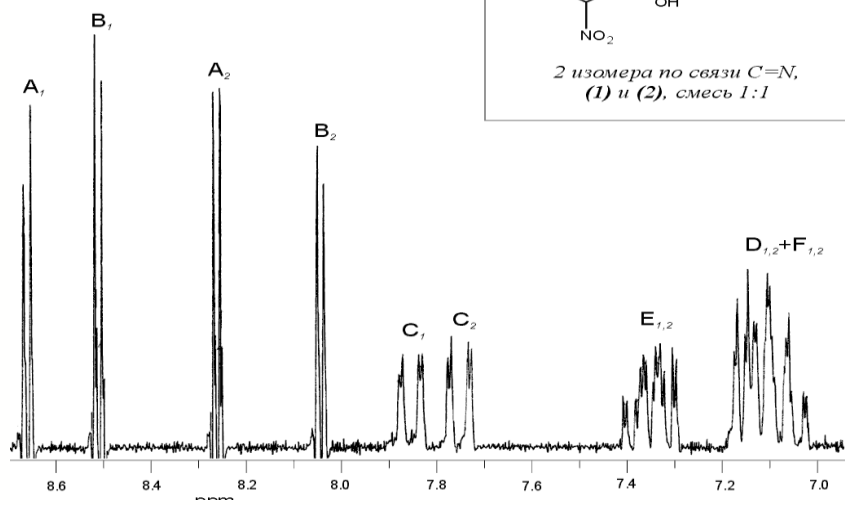
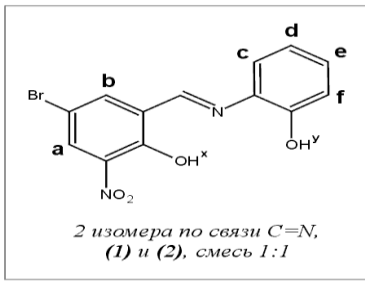
$(\pi/2)_x$ — t_1 — $(\pi/2)_x$ — выборка (t_2)
 [$(\pi/4)_x$ для COSY-45]



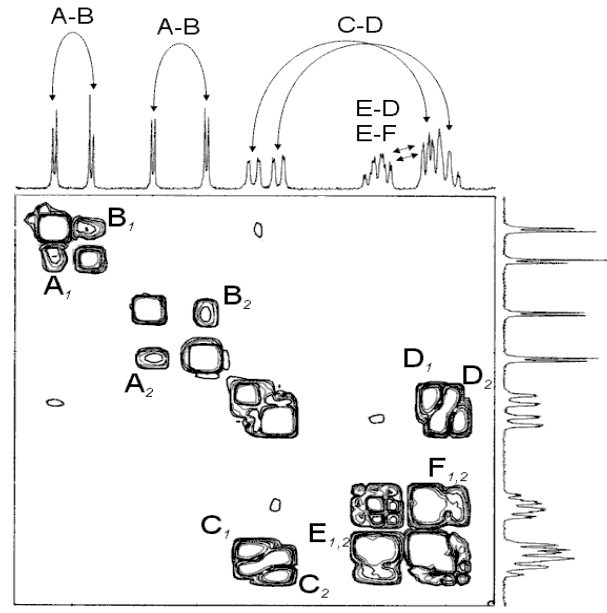
2D корреляционные ЯМР эксперименты

Двумерная ЯМР спектроскопия (1H-1H COSY модификация)

ЯМР ¹H, 200 МГц, фрагмент

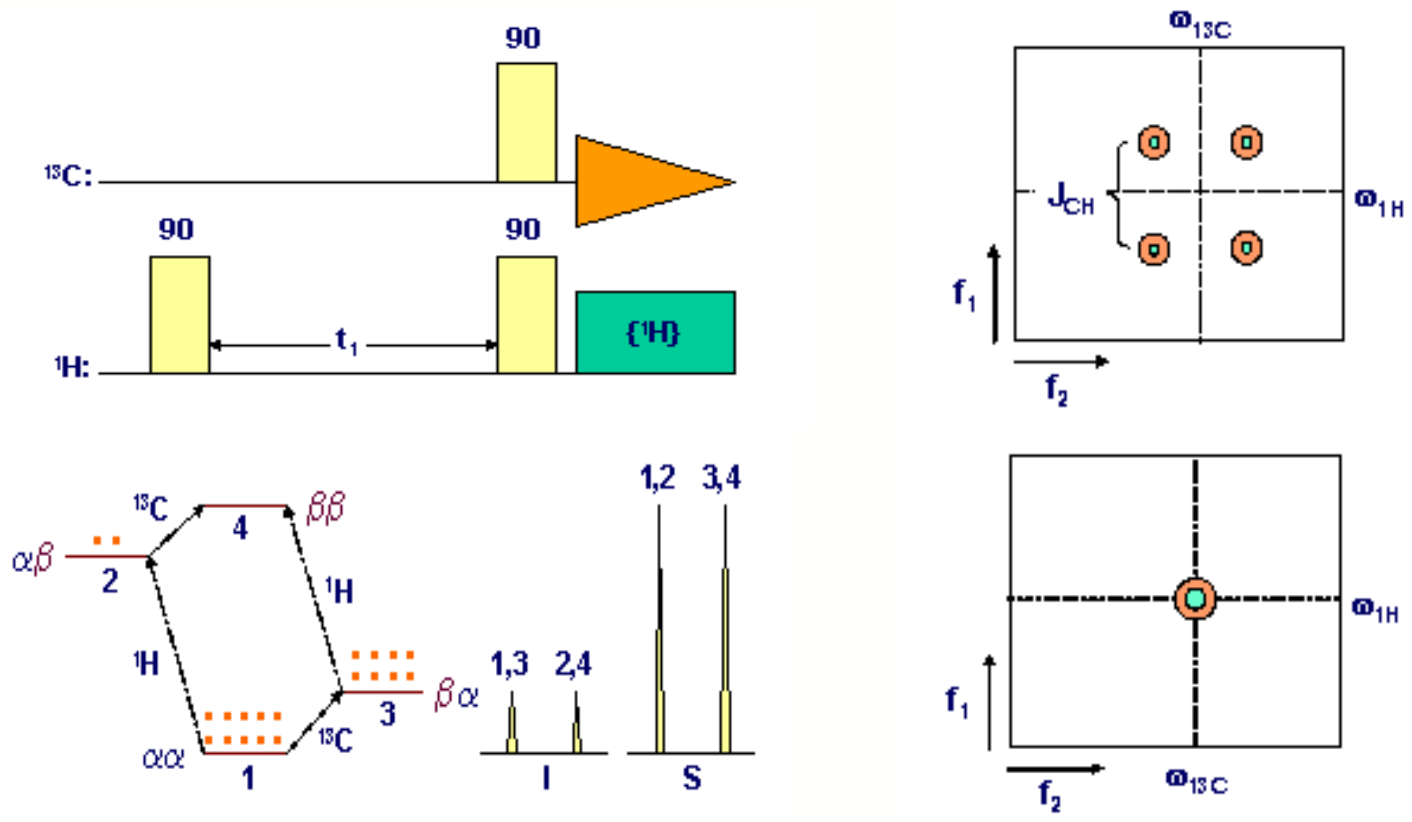


{¹H, ¹H} COSY



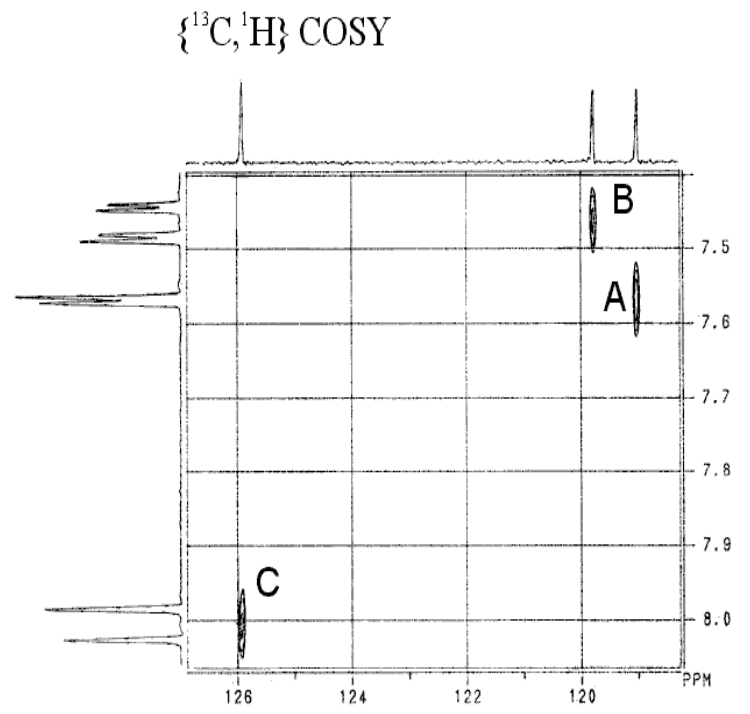
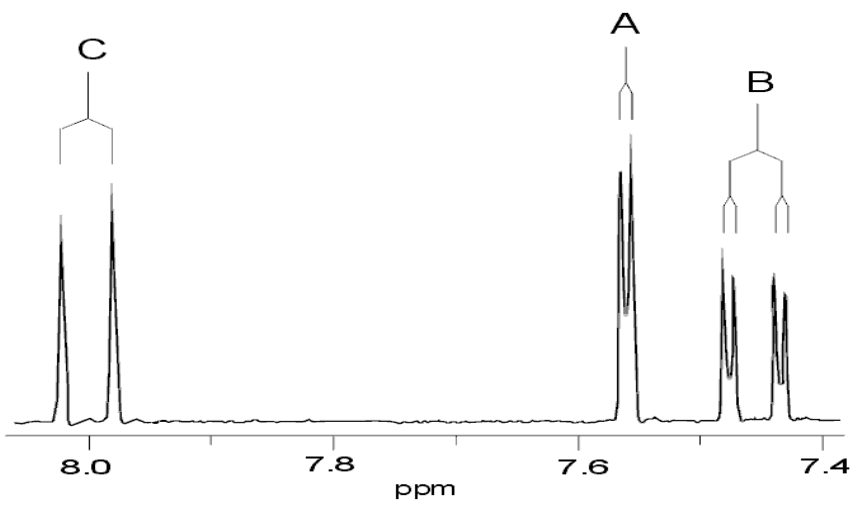
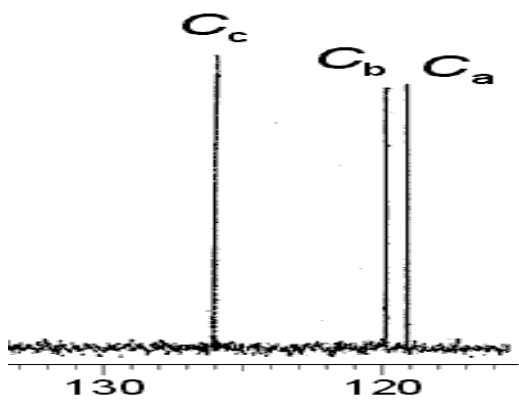
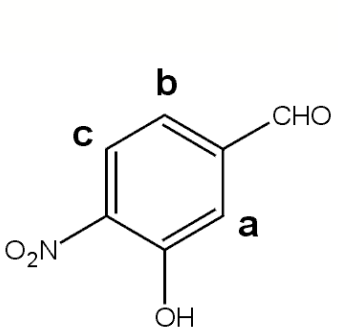
2D корреляционные ЯМР эксперименты

Двумерная ЯМР спектроскопия (^{13}C - ^1H HETCOR [HSQC] модификация)

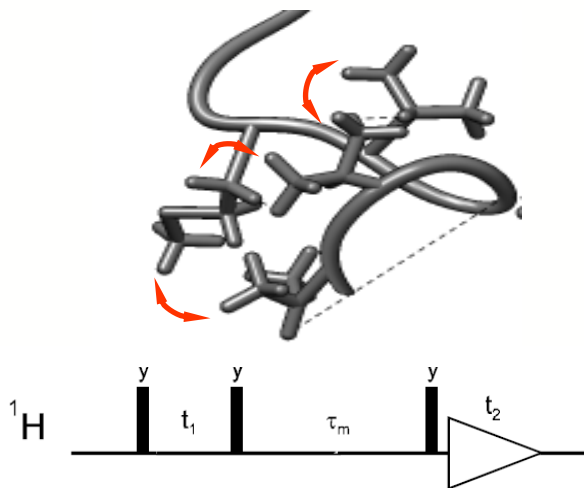


2D корреляционные ЯМР эксперименты

Двумерная ЯМР спектроскопия (^{13}C - ^1H HETCOR [HSQC] модификация)



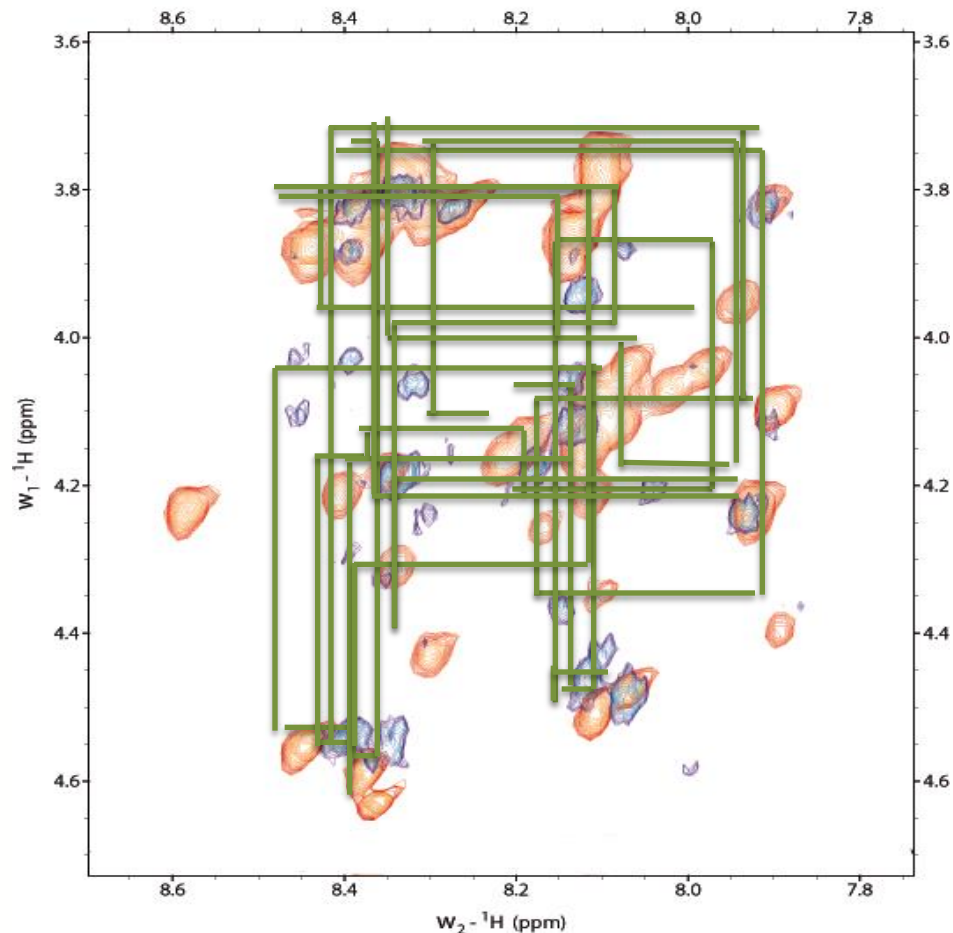
^1H - ^1H NOESY (Nuclear Overhauser effect spectroscopy)



Импульсная последовательность
 ^1H - ^1H NOESY

Аминокислотная последовательность $\text{A}\beta_{1-40}$

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV

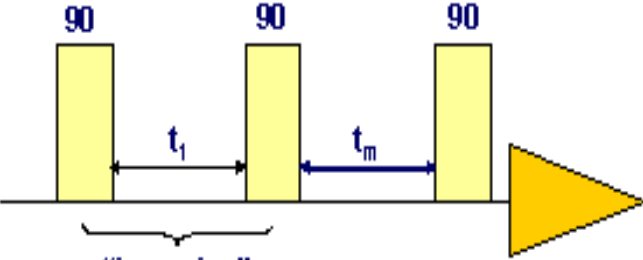
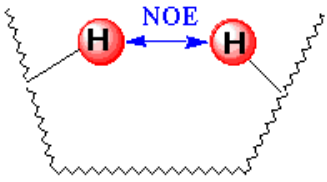


Двумерный ^1H - ^1H NOESY спектр ЯМР бета-амилоида $\text{A}\beta_{1-40}$ в растворе 20 мМ фосфатного буфера при pH 7.3 (95% H_2O +5% D_2O); T = 293 K, τ_{mix} =200 мс.

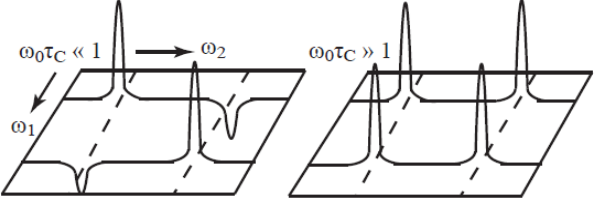
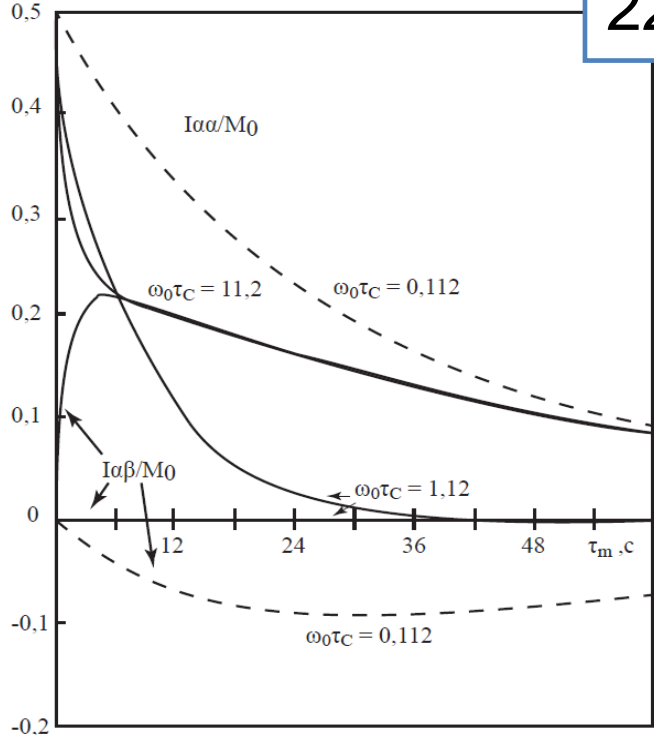
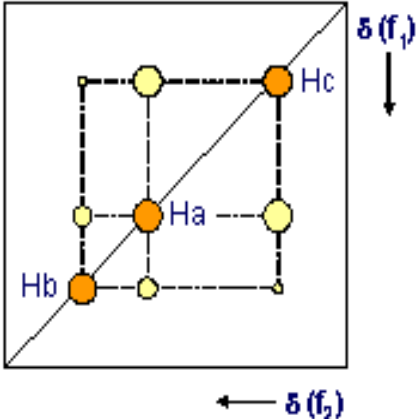
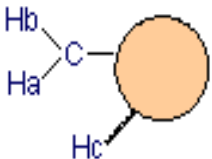


Ядерный эффект Оверхаузера (Nuclear Overhauser effect spectroscopy)

$$D_{IS} = -\frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{4\pi^2 r_{IS}^3} \left(\frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} \right)$$

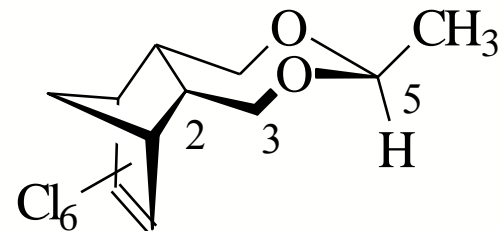
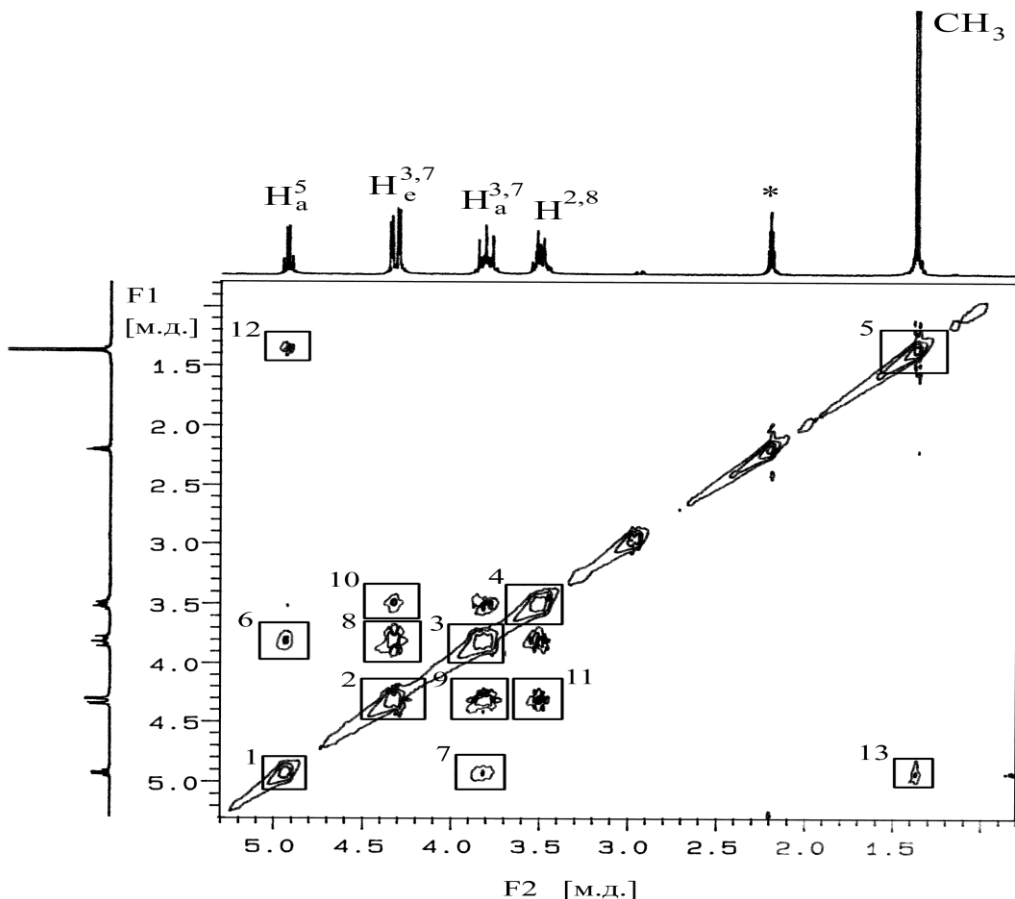


Последовательность
гомоядерного
NOESY.



Зависимость интенсивностей
диагональных и кросс-пиков от времени
смешивания для двухспиновой системы.

Ядерный эффект Оверхаузера (Nuclear Overhauser effect spectroscopy)



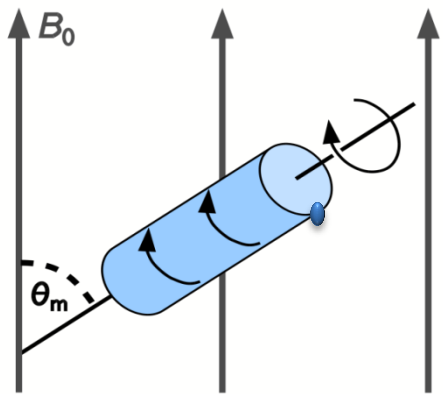
$C(3)H_a - C(5)H_a = 2.14 A^\circ$
 $C(3)H_a - C(3)H_e = 1.78 A^\circ$
 $C(2)H - C(3)H_e = 2.43 A^\circ$

Двумерный ЯМР NOESY спектр Me-4,6-диоксатрицикло-[9.2.1.0]-гексахлордодека-10-ена при T= 298 K

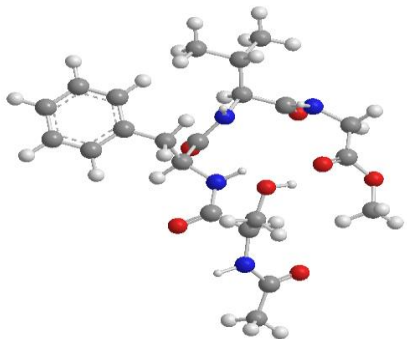
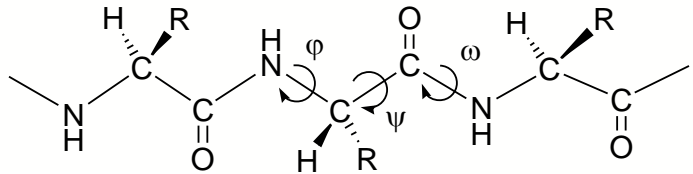


CP/MAS ЯМР спектроскопия

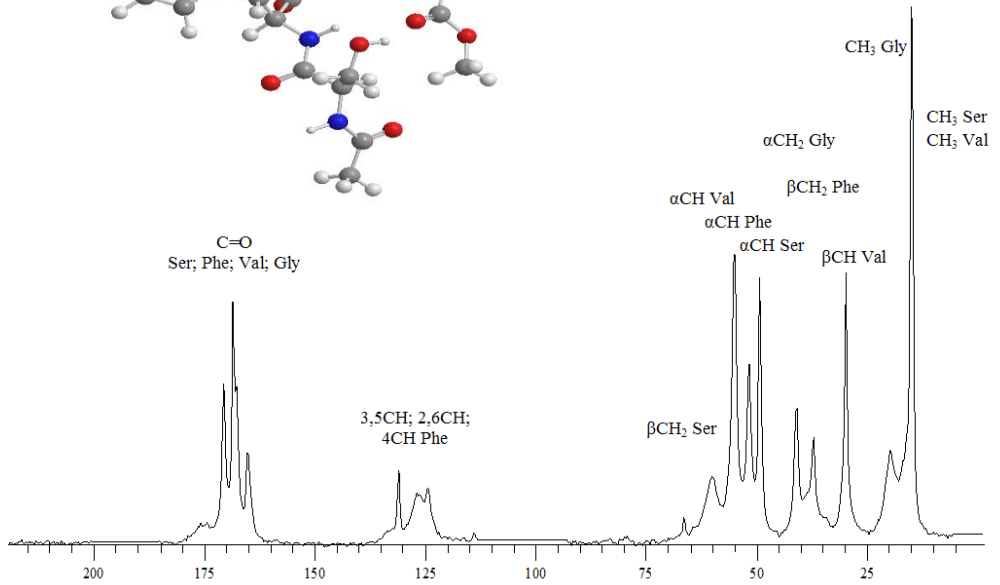
ЯМР эксперимент CP/MAS включает в себя вращение образца в магнитном поле (B_0) с частотой до 20 кГц под углом ($\theta_m = 54.74^\circ$) относительно ориентации внешнего магнитного поля (magic-angle-spinning, MAS) и передачу намагниченности ядер ^1H на ядра ^{13}C или ^{15}N (cross-polarization, CP).



$$H = -\frac{1}{2}d[I^{(1)}I^{(2)} - 3I_z^{(1)}I_z^{(2)}](1 - 3\cos^2 \theta)$$



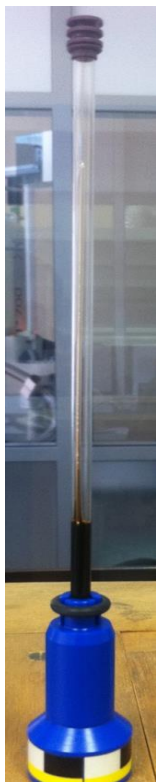
наше "know - how"



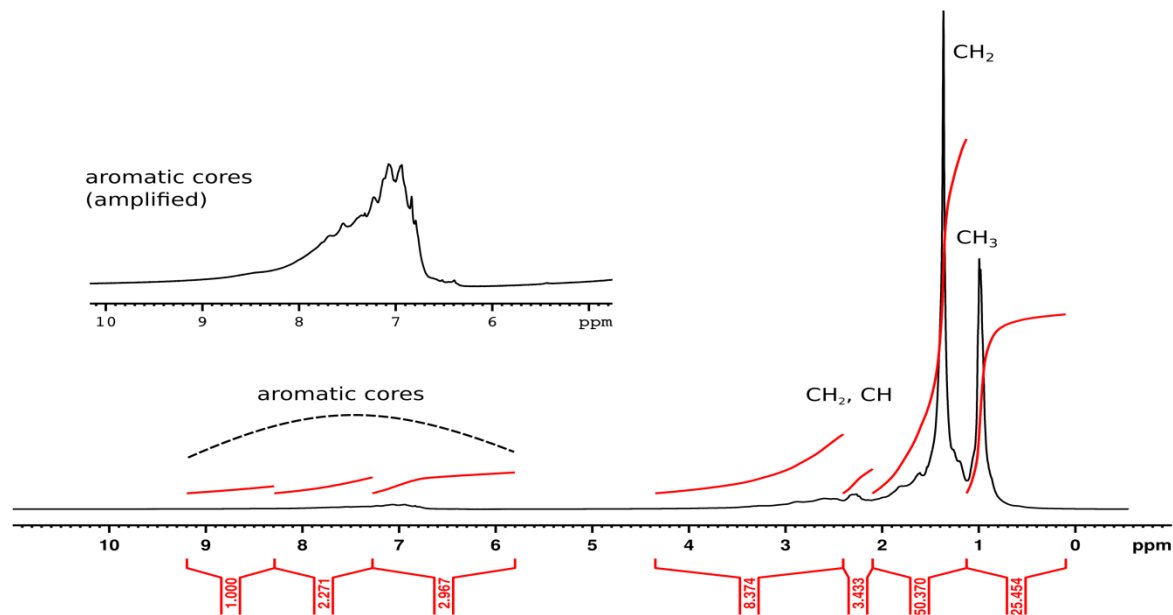
CP/MAS ЯМР ^{13}C (75.43 МГц) спектр тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe



Качественный и количественный состав образцов нефти, добытой на различных месторождениях, по данным ЯМР-спектроскопии

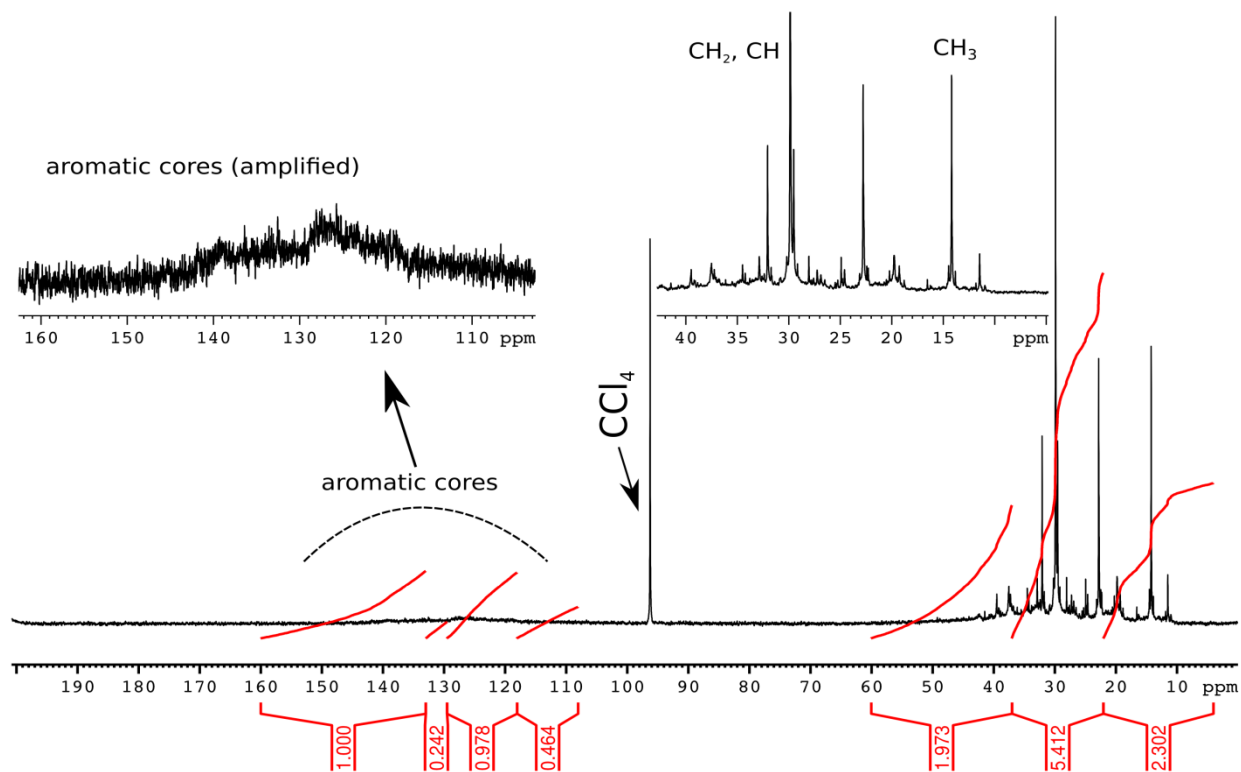
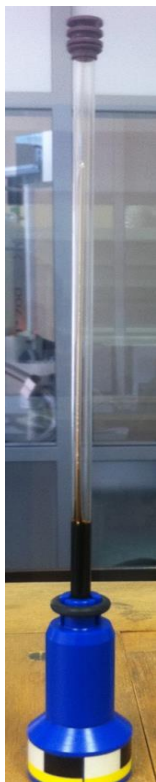


Исследованы образцы нефти из следующих месторождений: Контузлинского (I), Хатыровского (II), Аканского (III), Эллинского (IV), а также проведен сравнительный анализ образцов нефти, отобранных из верхней (V) и нижней (VI) части башкирского яруса в одной и той же скважине Аканского месторождения.



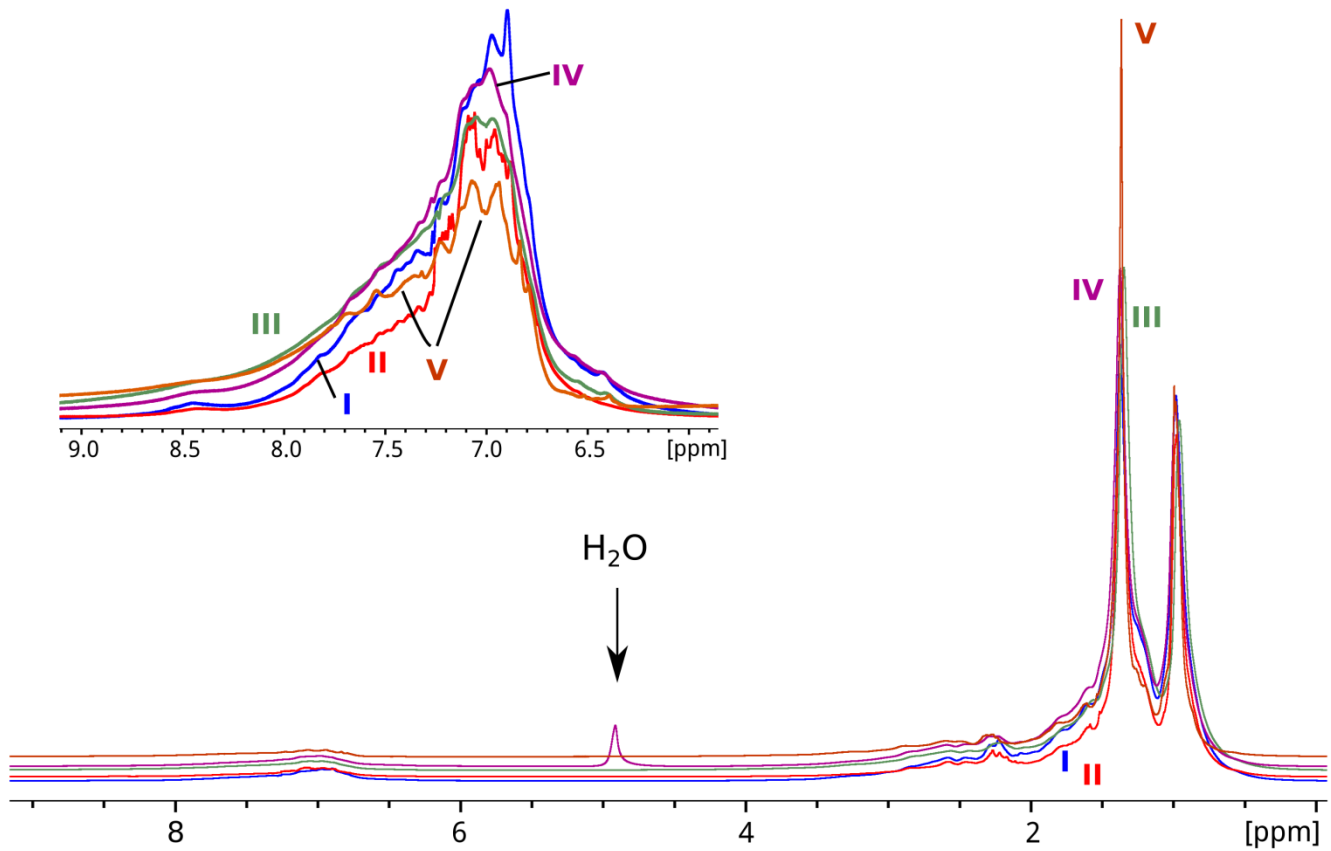
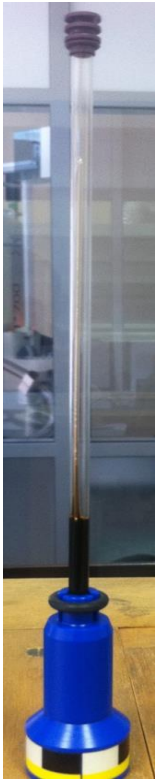
Спектр ЯМР ^1H (500 МГц) образца нефти из башкирского яруса (VI) в смеси с CCl_4 (слева сигналы ароматических протонов увеличены в 32 раза)

Качественный и количественный состав образцов нефти, добытой на различных месторождениях, по данным ЯМР-спектроскопии



Спектр ЯМР ^{13}C (125.8 МГц) образца нефти из башкирского яруса (VI) в смеси с CCl_4 : а - сигналы ЯМР ^{13}C ароматических углеродов (увеличены в 16 раз); б - алифатических углеродов

Качественный и количественный состав образцов нефти, добытой на различных месторождениях, по данным ЯМР-спектроскопии



Сравнение спектров ЯМР 1H (500 МГц) пяти образцов нефти



28

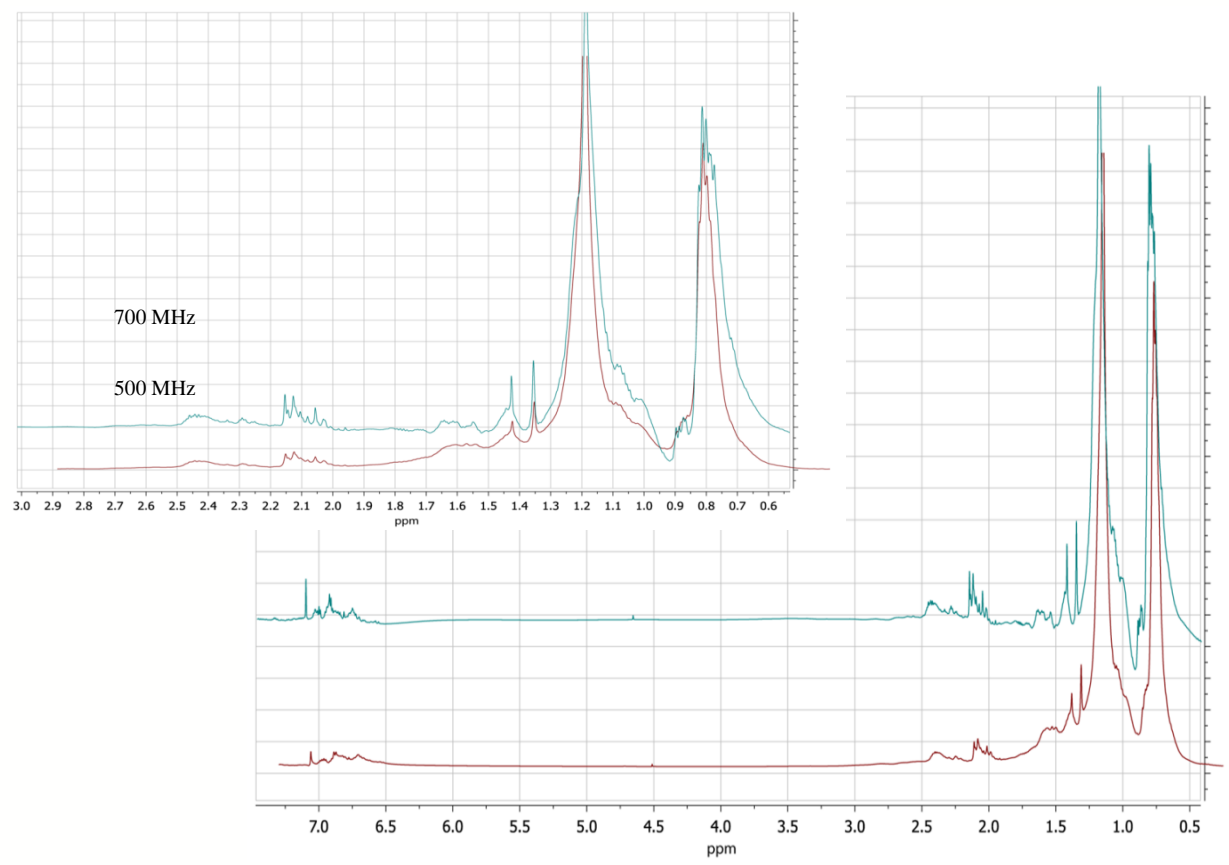
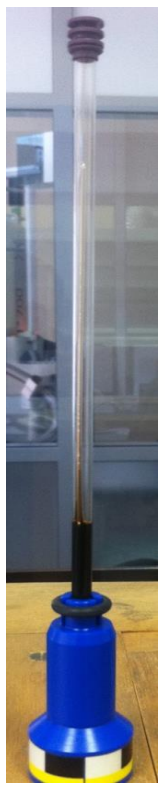
Качественный и количественный состав образцов нефти, добытой на различных месторождениях, по данным ЯМР-спектроскопии

Молярные доли групп, содержащих первичные, вторичные + третичные, четвертичные и ароматические атомы углеродов в образцах нефти из соответствующих месторождений по данным ЯМР ^{13}C спектроскопии

	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)
C_p	22.8	24.3	19.8	19.9	18.2	17.4
C_{sq}	50.5	55.6	55.4	54.3	45.3	44.6
C_t	12.0	9.4	9.9	13.8	18.5	19.1
C_{ar}	14.7	10.7	14.8	12.0	17.9	19.0

Адаптация методов современной ЯМР спектроскопии [одномерная ЯМР (^1H , ^{13}C) и двумерная ЯМР (COSY, HSQC, HSQC-TOCSY и др.) спектроскопия] к определению состава нефти и нефтепродуктов

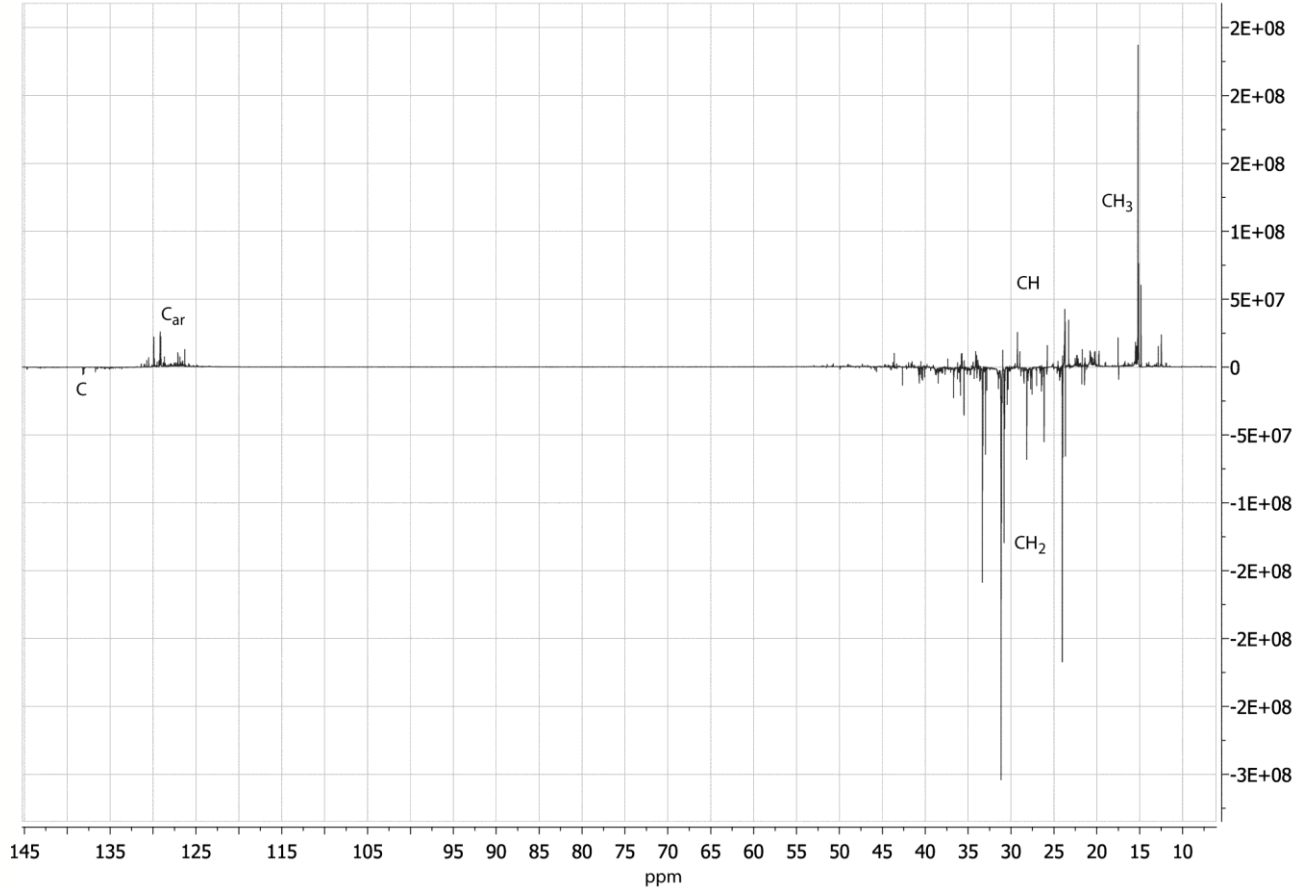
Исследованы образцы нефти под номерами : - 401; - 3002



Сравнение спектров ЯМР ^1H (500 MHz, 700 MHz). Образец: 3002. Однородность магнитного поля контролировалась по сигналу D_2O (внешний капилляр). Слева вверху высокопольная часть спектров.



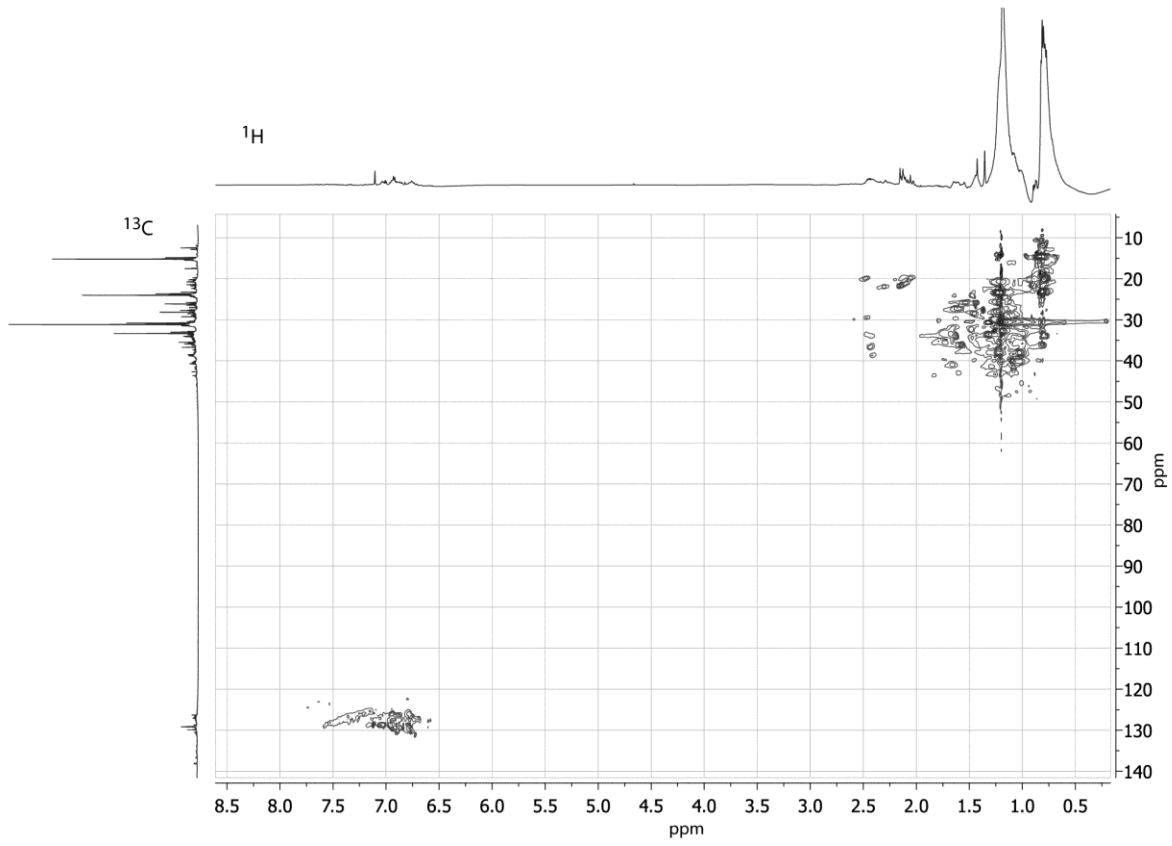
Отнесение сигналов в ЯМР спектрах образцов нефти



Спектр ЯМР ^{13}C образца нефти - 401 (АРТ- модификация) (176.0 МНz)



Отнесение сигналов в ЯМР спектрах образцов нефти



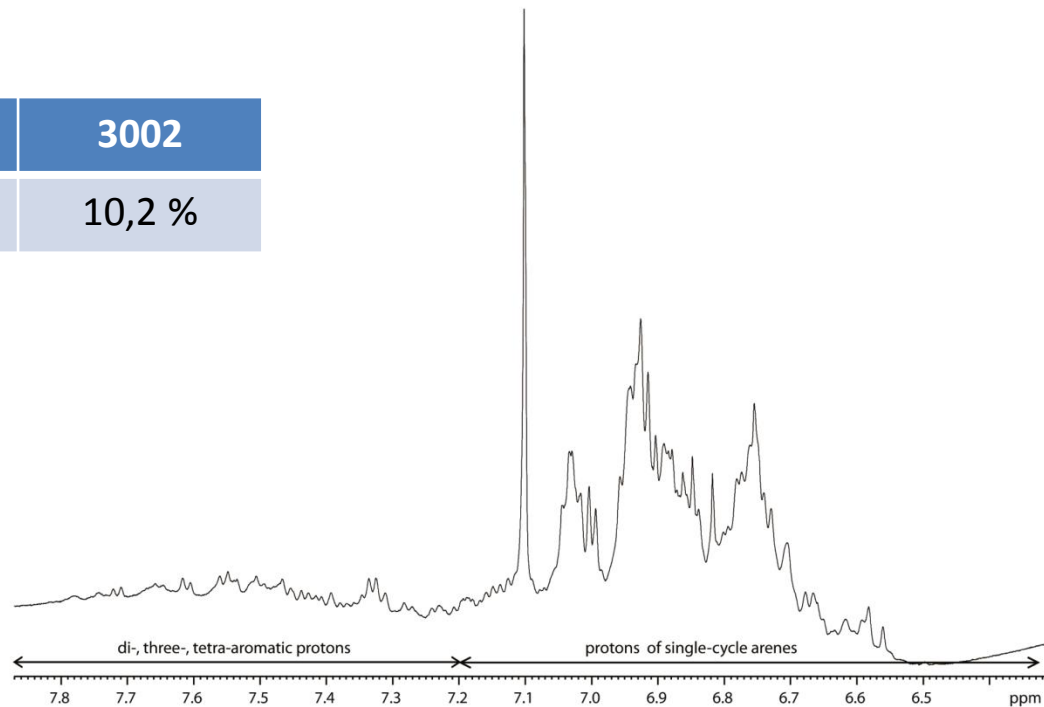
Спектр ЯМР HSQC (^1H - ^{13}C) (700 MHz - 176.0 MHz) образца нефти - 401



Результаты ЯМР исследований образцов нефти

32

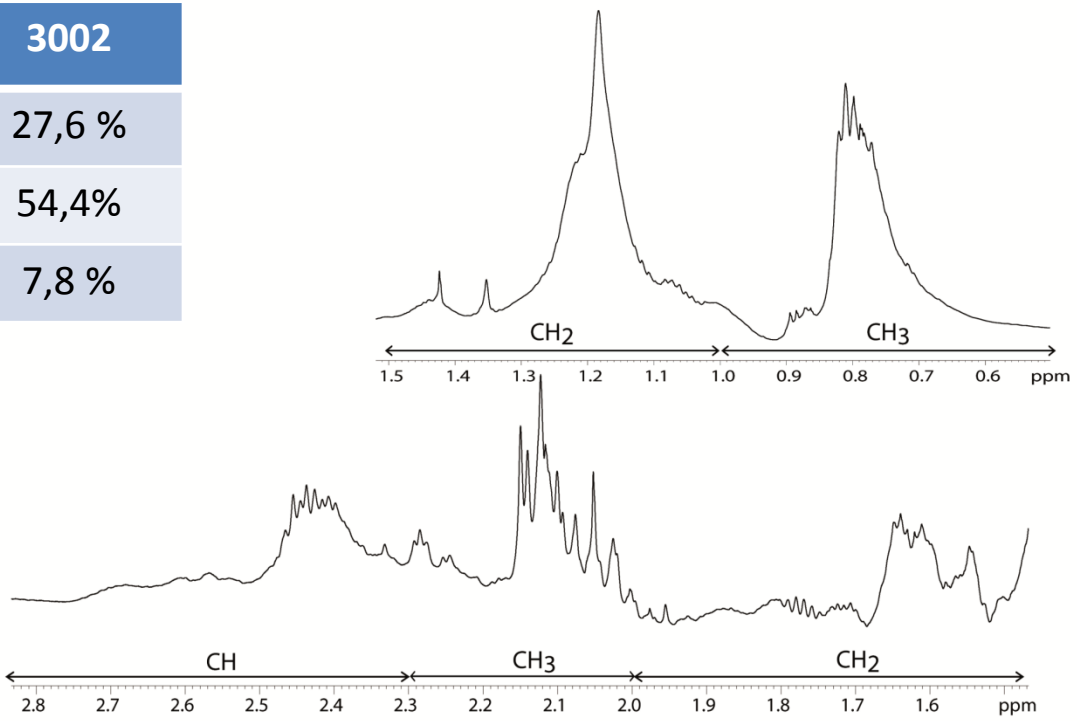
401	3002
8,7 %	10,2 %



Спектр ЯМР ^1H (700 MHz). Область сигналов протонов ароматических групп.

Результаты ЯМР исследований образцов нефти

	401	3002
CH ₃	25,1 %	27,6 %
CH ₂	55,5 %	54,4%
CH	10,7 %	7,8 %

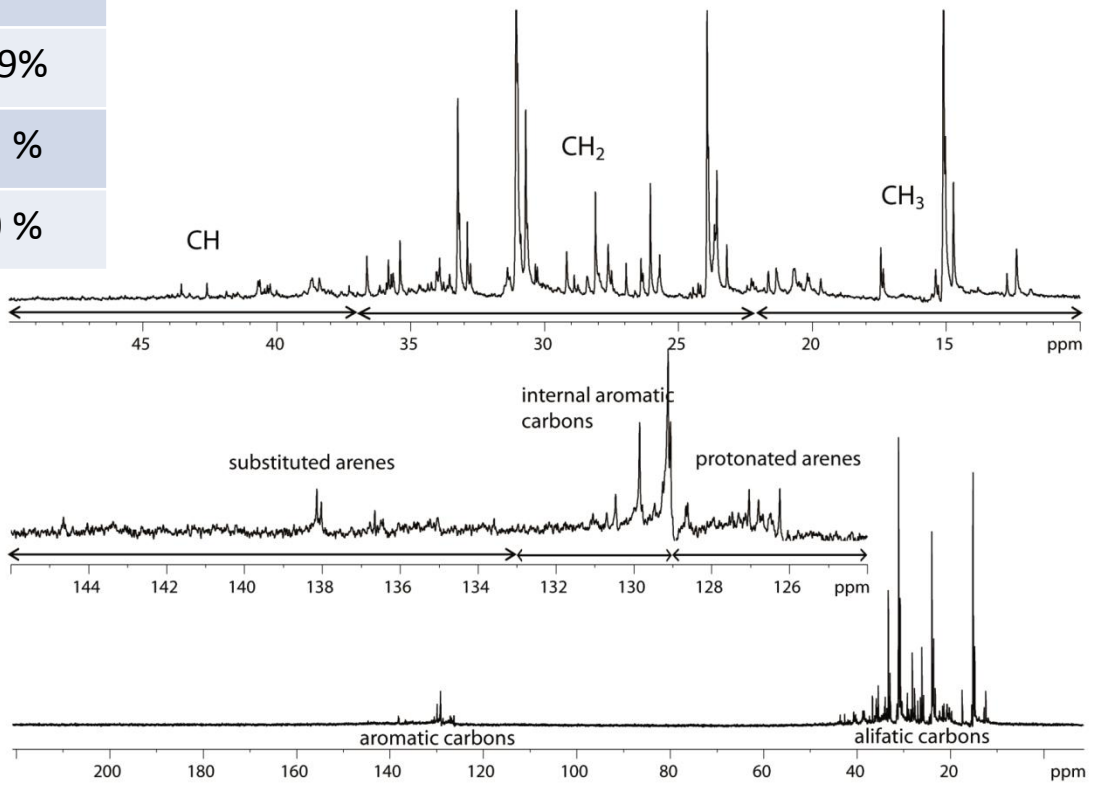


Спектр ЯМР ¹H (700 MHz). Область сигналов протонов алифатических групп.



Результаты ЯМР исследований образцов нефти

	401	3002
CH ₃	16,2 %	16,5 %
C, CH ₂	70,7 %	70,9%
CH	6,6 %	5,5 %
C _{ar}	6,4 %	7,0 %



Области сигналов атомов углерода в спектрах ЯМР ¹³C (176.0 MHz) исследуемых образцов

Результаты ЯМР исследований образцов нефти

	401	3002
H _{ar}	8,7 %	10,2 %
CH ₃	25,1 %	27,6 %
CH ₂	55,5 %	54,4%
CH	10,7 %	7,8 %

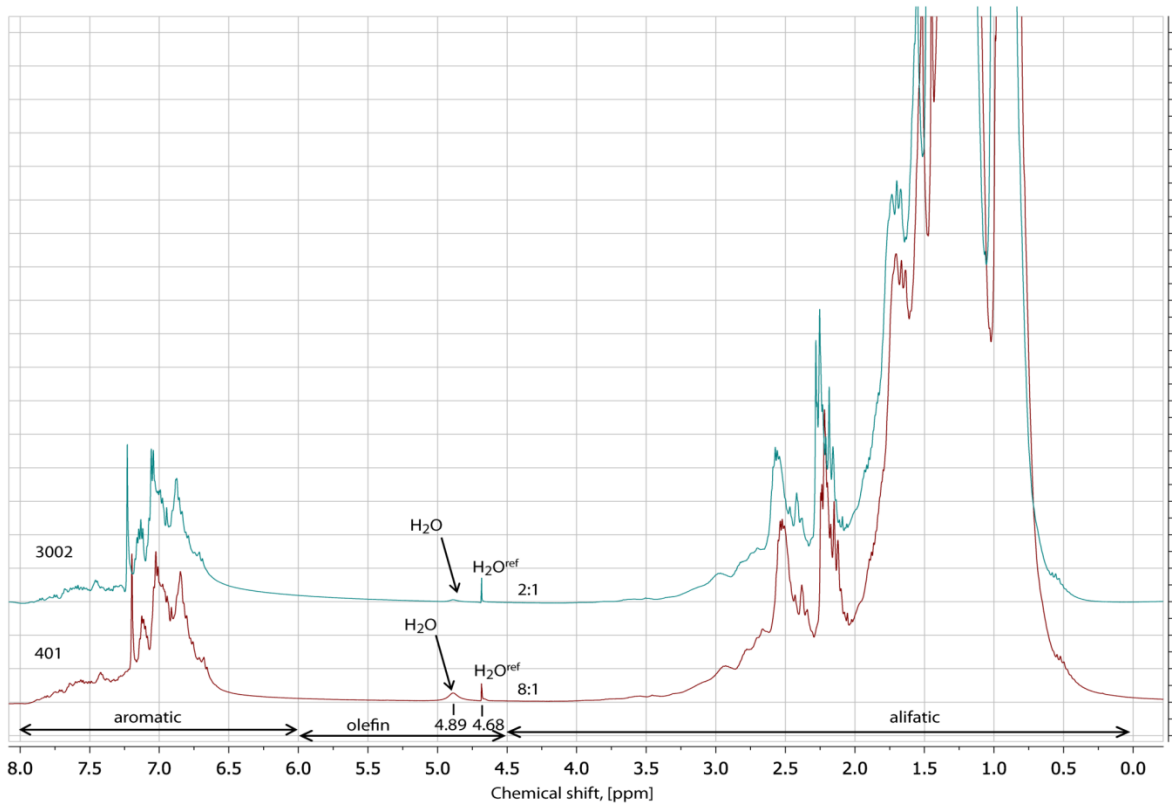
	401	3002
C _{ar}	6,4 %	7,0 %
CH ₃	16,2 %	16,5 %
C, CH ₂	70,7 %	70,9%
CH	6,5 %	5,5 %

Молярное содержание функциональных органических групп образцов нефти 401, 3002. Данные ЯМР ¹H слева, ¹³C- справа.

401	3002
10,1	9,9

Оценка средней длины углеводородной цепи -
лежит в диапазоне [C₇H₁₆ - C₁₁H₂₄] с T_{кип} < 100 °C
и может использоваться при производстве бензина

Результаты ЯМР исследований образцов нефти



Спектр ЯМР 1H (500 и 700 МГц) образцов нефти. Содержание воды в образцах контролировалась по сигналу D2O во внешнем капилляре



Интернет ресурсы по курсу ЯМР спектроскопия

Клочков В.В., Каратаева Ф.Х., Рахматуллин И.З. ЯМР высокого разрешения нефти и продуктов нефтехимического синтеза

<http://do.kpfu.ru/course/index.php?categoryid=198>

Юльметов А.Р., Клочков В.В. Введение в ЯМР спектроскопию

<http://shelly.ksu.ru/portal/docs/F1474408276/NMR.pdf>

Каратаева Ф.Х., Клочков В.В. Спектроскопия ЯМР в органической химии

http://www.kpfu.ru/docs/F413273025/NMR_spectroscopy_1.pdf



ЯМР спектрометр "AVANCE -II-ТМ - 500" "Bruker"

38

^1H (500 МГц) и ^{13}C (125.69 МГц), мультиядерный, возможность съемки двумерных спектров ЯМР (COSY, TOCSY, HSQC, NOESY), CP/MAS NMR на ядрах ^{13}C , ^{14}N , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si ; чувствительность на ядрах ^1H - 200 : 1 для 0.1% раствора этилбензола.





ЯМР спектрометр AVANCE-- IIITM - HD - 700 "Bruker"

Криодатчик QCI CryoProbe позволяет проводить ЯМР-измерения на ядрах- ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P ; CP/MAS NMR - ^1H , ^{13}C , ^{15}N ; чувствительность на ядрах ^1H составляет $\sim 5600 : 1$ для 0.1% раствора этилбензола.





Казанский федеральный университет
Научная лаборатория ЯМР



Спасибо за внимание!