

# Entwicklung und Anwendung von DNP verstärkter Festkörper NMR zur Untersuchung der Oberflächenfunktionalisierung biopolymerhaltiger Materialien

## PhD Thesis

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Genehmigte Dissertation im Fachbereich Chemie von Mark Valentin Höfler

Tag der Einreichung: 07. Mai 2024, Tag der Prüfung: 24. Juni 2024

1. Gutachten: apl. Prof. Dr. Torsten Gutmann
2. Gutachten: Prof. Dr. Gerd Buntkowsky  
Darmstadt, Technische Universität Darmstadt



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

Fachbereich Chemie  
Eduard-Zintl-Institut für  
physikalische Chemie

Entwicklung und Anwendung von DNP verstärkter Festkörper NMR zur Untersuchung der  
Oberflächenfunktionalisierung biopolymerhaltiger Materialien  
PhD Thesis

Genehmigte Dissertation im Fachbereich Chemie von Mark Valentin Höfler

Tag der Einreichung: 07. Mai 2024

Tag der Prüfung: 24. Juni 2024

Darmstadt, Technische Universität Darmstadt

Bitte zitieren Sie dieses Dokument als:

URN: urn:nbn:de:tuda-tuprints-281724

URL: <https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/28172>

Jahr der Veröffentlichung auf TUprints: 2024

Dieses Dokument wird bereitgestellt von tuprints,  
E-Publishing-Service der TU Darmstadt

<https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de>

[tuprints@ulb.tu-darmstadt.de](mailto:tuprints@ulb.tu-darmstadt.de)

Die Veröffentlichung steht unter folgender Creative Commons Lizenz:

Namensnennung 4.0 International

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Die Veröffentlichung steht unter folgender Creative Commons Lizenz:

Namensnennung 4.0 International

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

---

## Erklärungen laut Promotionsordnung

### § 8 Abs. 1 lit. d PromO

Ich versichere hiermit, dass zu einem vorherigen Zeitpunkt noch keine Promotion versucht wurde. In diesem Fall sind nähere Angaben über Zeitpunkt, Hochschule, Dissertationsthema und Ergebnis dieses Versuchs mitzuteilen.

### § 9 Abs. 1 PromO

Ich versichere hiermit, dass die vorliegende Dissertation – abgesehen von den in ihr ausdrücklich genannten Hilfen – selbstständig verfasst wurde und dass die „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Technischen Universität Darmstadt“ und die „Leitlinien zum Umgang mit digitalen Forschungsdaten an der TU Darmstadt“ in den jeweils aktuellen Versionen bei der Verfassung der Dissertation beachtet wurden.

### § 9 Abs. 2 PromO

Die Arbeit hat bisher noch nicht zu Prüfungszwecken gedient.

Darmstadt, 07. Mai 2024

---

Mark Valentin Höfler

---

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Abstract</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Theorie</b>	<b>7</b>
3.1	Grundlagen der NMR . . . . .	7
3.2	Festkörper NMR . . . . .	8
3.2.1	Wechselwirkungen . . . . .	8
3.2.2	Magic Angle Spinning (MAS) . . . . .	10
3.2.3	Pulssequenzen . . . . .	10
3.3	Festkörper DNP . . . . .	14
3.3.1	Allgemeines zur Festkörper DNP . . . . .	14
3.3.2	Solid-Effekt . . . . .	16
3.3.3	Cross-Effekt . . . . .	17
3.3.4	Thermal Mixing . . . . .	17
3.3.5	Overhauser Effekt . . . . .	18
3.3.6	Spindiffusion . . . . .	18
<b>4</b>	<b>Chemische Modifizierung von Cellulose</b>	<b>19</b>
4.1	TEMPO oxidierte Baumwollfasern . . . . .	19
4.1.1	Einleitung . . . . .	19
4.1.2	Methoden . . . . .	20
4.1.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	20
4.1.4	Fazit . . . . .	23
4.2	Vernetzte Hydroxypropylcellulose . . . . .	24
4.2.1	Einleitung . . . . .	24
4.2.2	Methoden . . . . .	25
4.2.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	26
4.2.4	Fazit . . . . .	29
<b>5</b>	<b>Farbstofffunktionalisierung von Biopolymeren</b>	<b>30</b>
5.1	Einleitung . . . . .	30
5.2	Methoden . . . . .	31
5.2.1	Allgemein . . . . .	31
5.2.2	Allgemeine Probenpräparation . . . . .	32
5.2.3	Probenpräparation für DNP NMR Experimente . . . . .	32
5.2.4	DNP NMR Experimente . . . . .	33
5.2.5	Probenpräparation für Amplified Spontaneous Emission (ASE) Experimente . . . . .	34



- 5.3 Ergebnisse und Diskussion . . . . . 34
  - 5.3.1 Kalligraphisches Papier . . . . . 34
  - 5.3.2 Chitosan Trägermaterial . . . . . 37
  - 5.3.3 Anwendung der imprägnierten Trägermaterialien . . . . . 41
- 5.4 Fazit . . . . . 42
  
- 6 Biofunktionalisierung von Cellulose basierten Materialien 43**
  - 6.1 Einleitung . . . . . 43
  - 6.2 Glycinfunktionalisierung auf Papieren und Microcrystalline Cellulose (Mikrokristalline Cellulose) (MCC) . . . . . 43
    - 6.2.1 Methoden . . . . . 44
    - 6.2.2 Ergebnisse und Diskussion . . . . . 46
    - 6.2.3 Fazit . . . . . 50
  - 6.3 Prolinfunktionalisierung auf Papieren . . . . . 51
    - 6.3.1 Methoden . . . . . 51
    - 6.3.2 Ergebnisse und Diskussion . . . . . 55
    - 6.3.3 Fazit . . . . . 62
  - 6.4 Peptidfunktionalisierung auf MCC . . . . . 63
    - 6.4.1 Methoden . . . . . 63
    - 6.4.2 Ergebnisse und Diskussion . . . . . 65
    - 6.4.3 Fazit . . . . . 72

---

# 1 Zusammenfassung

---

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Festkörper NMR und DNP verstärkte Festkörper NMR Experimente an Biopolymer basierenden Materialien (z.B. Cellulose- oder Papierträger) optimiert und angewendet. Diese Studien haben dazu beigetragen, dass neue Erkenntnisse im Bereich der DNP verstärkten NMR im Bezug auf diese Materialien gewonnen werden konnten. Darüber hinaus lieferten die in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnisse grundlegende Erkenntnisse im Bereich der Funktionalisierung von Biopolymeren. So war es durch diese Arbeit möglich die TEMPO vermittelte Oxidation von Cellulosefasern über die Zeit und NaOCl Konzentration mit klassischer  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR zu verfolgen und nachzuweisen, dass die Oxidation vornehmlich an den amorphen Bereichen des  $\text{C}_6$  der Cellulose stattfindet, wohingegen die kristallinen Anteile des  $\text{C}_4$  und  $\text{C}_6$  der Fasern in der Mehrheit nicht reagieren. Die Oxidation von Cellulose steht in vielen Anwendungen als erster Schritt, um sie für weitere Funktionalisierungen zugänglich zu machen. Somit trägt diese Erkenntnis zum besseren Verständnis der chemischen Funktionalisierung der Cellulosefasern bei. Eine Möglichkeit für eine fortführende Funktionalisierung von Cellulose stellt die Vernetzung von oxidierten Cellulosederivaten (HPC) durch Linkermoleküle dar. Diese Verknüpfung konnte mittels DNP verstärkter NMR verfolgt werden. Darüber hinaus lieferte die Verwendung dieser Methode Erkenntnisse über den exakten Verknüpfungsmechanismus der oxidierten HPC. So konnte mittels DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR gezeigt werden, dass das Amin in den Linkermolekülen durch die Vernetzung zu Amid- und Iminen reagieren. Diese Information ist hilfreich für das tiefere Verständnis makroskopischer Eigenschaften dieser Materialien wie Nassfestigkeit. Die hier gewonnenen Grundkenntnisse aus NMR spektroskopischen Untersuchungen können in Zukunft verwendet werden, um durch Oxidation modifizierte Cellulose basierte Materialien zu untersuchen und eine systematische Strukturaufklärung in diesem Bereich durchzuführen.

Im darauffolgenden Abschnitt wurden funktionalisierte Biopolymere mit einem direkten Anwendungsbezug für ASE Experimente mit  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  und  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS DNP untersucht. Hierbei lag der Fokus nicht nur auf der strukturellen Aufklärung sondern auch auf der Untersuchung der Interaktion des Trägermaterials (Papier und Chitosan) mit Lösemitteln und dem eingebrachten Farbstoff. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass das Lösemittel in der DNP Matrix auf die Oberflächenstruktur der Papiere/Papierfasern nur einen geringen Einfluss hat, während sie einen großen Einfluss auf die Struktur von Chitosan basierten Trägermaterialien hat. Durch die DNP verstärkte NMR konnte gezeigt werden, dass sich ein Wasserstoffbrückennetzwerk ausbildet, welches zusätzlich durch das Einbringen von funktionalen Farbstoffmolekülen beeinflusst wird. Dieses Wasserstoffbrückennetzwerk ist vermutlich für die Rotverschiebung der Emissionslinien in den ASE Experimenten an Materialien basierend auf Chitosan im Vergleich zu Materialien basierend auf Papier verantwortlich.

Im folgenden Kapitel sollte die Sensitivität der NMR weiter gesteigert werden, um komplexere Systeme untersuchen zu können. Eine Möglichkeit für ein solches System bietet die direkte chemische Anbindung kleiner biorelevanter Moleküle an Papier oder MCC. In dieser Arbeit konnte eine effiziente Synthesstrategie für die Anbindung von Aminosäuren an Papier und MCC erarbeitet werden. Diese Systeme stellen einfache Modelle für die Biofunktionalisierung dieser Trägermaterialien dar. An diesen Systemen konnten sowohl klassische Festkörper NMR Pulssequenzen für Cellulose basierte Materialien, sowie elaboreierte

---

Pulssequenzen optimiert werden. So konnten durch die DNP Verstärkung REDOR Experimente an einem  $^{15}\text{N}$  markierten Glycin auf Papier erfolgreich durchgeführt werden. Außerdem konnten Double Quantum Rotational Resonance (DQrotreson) und 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  Korrelationsexperimente implementiert werden, mit deren Hilfe die erfolgreiche Anbindung von Aminosäuren an Cellulose gezeigt werden konnte. Zusätzlich konnte durch einbringen eines  $^{19}\text{F}$  Spinlabels an eine Aminosäure die Beladung der Papierproben durch die gewählte Synthesestrategie mit  $^{19}\text{F}$  MAS NMR quantifiziert werden. Das  $^{19}\text{F}$  Spinlabel konnte außerdem verwendet werden um die Unversehrtheit der Aminosäure zu bestätigen. Zusätzlich wurde dieser Ansatz verwendet, um die Sensitivität der DNP verstärkten NMR weiter zu steigern, sodass Funktionalisierungen im Bereich von  $1\ \mu\text{mol/g}$  mit  $^{19}\text{F}$  MAS DNP detektiert werden konnten.

Im letzten Abschnitt dieser Arbeit wurden die implementierten Techniken auf komplexere Systeme im Bereich der Biofunktionalisierung angewendet. So wurde gezeigt, dass auch ein kleines Peptid mit unserer vorgeschlagenen Syntheseroute auf MCC angebunden werden kann. Auch hier konnte eine Quantifizierung mit  $^{19}\text{F}$  MAS NMR durchgeführt werden. Zusätzlich konnte durch Isotopenmarkierung des Peptides unter Verwendung von  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR sowie DQrotreson Experimenten die Anbindung des Peptides an MCC gezeigt werden.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Festkörper NMR Techniken legen den Grundstein für eine zukünftige breitere Anwendung zur Untersuchung komplexer biopolymerbasierter Funktionsmaterialien.

---

## 2 Abstract

---

In this work, solid-state NMR and DNP-enhanced solid-state NMR experiments were optimized and applied to biopolymer-based materials (e.g. cellulose or paper substrates). These studies have contributed to new insights in the field of DNP-enhanced NMR with respect to these materials. In addition, the results described in this work have provided fundamental insights into the functionalization of biopolymers.

This work made it possible to follow the TEMPO-mediated oxidation of cellulose fibers over time and NaOCl concentration with classical  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS NMR and to demonstrate that the oxidation occurs mainly at the amorphous regions of the  $\text{C}_6$  of cellulose, whereas the crystalline parts of the  $\text{C}_4$  and  $\text{C}_6$  of the fibers do not react in the majority. In many applications, the oxidation of cellulose is the first step in making it accessible for further functionalization. This finding therefore contributes to a better understanding of the chemical functionalization of cellulose fibres. One possibility for further functionalization of cellulose is the cross-linking of oxidized cellulose derivatives (HPC) by linker molecules. This linkage could be tracked using DNP-enhanced NMR. In addition, the use of this method provided insights into the exact linking mechanism of the oxidized HPC. Thus, using DNP enhanced  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS NMR it could be shown that the amine in the linker molecules react by crosslinking to form amides and imines. This information is helpful for a deeper understanding of macroscopic properties of these materials such as wet strength. The basic knowledge gained here from NMR spectroscopic investigations can be used in the future to investigate cellulose-based materials modified by oxidation and to carry out systematic structural elucidation in this area.

In the following section, functionalized biopolymers with a direct application reference for ASE experiments with  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}\rightarrow^{15}\text{N}$  CP MAS DNP were investigated. Here, the focus was not only on the structural elucidation but also on the investigation of the interaction of the carrier material (paper and chitosan) with solvents and the introduced dye. In this context, it could be shown that the solvent in the DNP matrix has only a minor influence on the surface structure of the paper/paper fibers, while it has a major influence on the structure of chitosan-based carrier materials. DNP-enhanced NMR showed that a hydrogen bridge network is formed, which is additionally influenced by the introduction of functional dye molecules. This hydrogen bond network is probably responsible for the red shift of the emission lines in the ASE experiments on materials based on chitosan compared to materials based on paper.

In the following chapter, the sensitivity of NMR should be further increased in order to be able to investigate more complex systems. One possibility for such a system is the direct chemical attachment of small biorelevant molecules to paper or MCC. In this work, an efficient synthesis strategy for the attachment of amino acids to paper and MCC was developed. These systems represent simple models for the biofunctionalization of these carrier materials. Both classical solid-state NMR pulse sequences for cellulose-based materials and elaborated pulse sequences could be optimized on these systems. DNP amplification REDOR experiments were successfully performed on a  $^{15}\text{N}$  labeled glycine on paper. In addition, DQrotreson and 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  correlation experiments were implemented to demonstrate the successful binding of amino acids to cellulose. Additionally, by introducing a  $^{19}\text{F}$  spin label to an amino acid, the loading of the paper samples by the chosen synthesis strategy could be quantified by  $^{19}\text{F}$  MAS NMR. The  $^{19}\text{F}$  spin label could also be used to confirm the integrity of the amino acid. In addition, this approach was used to further

---

increase the sensitivity of DNP amplified NMR so that functionalizations in the range of 1  $\mu\text{mol/g}$  could be detected with  $^{19}\text{F}$  MAS DNP.

In the last section of this work, the implemented techniques were applied to more complex systems in the field of biofunctionalization. It was shown that a small peptide can also be bound to MCC using our proposed synthesis route. Here, too, a quantification with  $^{19}\text{F}$  MAS NMR could be performed. In addition, isotope labeling of the peptide using  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR and DQrotreson experiments demonstrated the binding of the peptide to MCC.

The solid-state NMR techniques described in this work lay the foundation for a future broader application to study complex biopolymer-based functional materials.

---

# Einleitung

---

Papier ist bereits seit mehr als 2000 Jahren bekannt. Seit dieser Zeit wurde die Herstellung optimiert, sodass Papier nicht nur als Schreibmaterial eine große Bedeutung hat, sondern auch als Verpackungs- und Reinigungsmaterial. Papier ist bereits seit langer Zeit Gegenstand der Forschung. In den letzten Jahren zeichnet sich jedoch ein Wandel ab. So sind klassische Anwendungen wie z.B. Schreibpapier rückläufig und der Fokus liegt mehr auf Spezialpapieren. Bei diesen Papieren ist das Ziel eine bestimmte Eigenschaft der Papiere durch gezielte Modifikationen zu erreichen. Beispielsweise können die fluidischen, mechanischen oder Grenzflächeneigenschaften eingestellt werden um ein breites Anwendungsspektrum zu bedienen. So können solche Materialien in Biosensoren,[1–6] Katalyse,[7, 8] oder in elektronischen Anwendungen oder der Photonik verwendet werden.[9–12]

Durch die Funktionalisierung steigt auch die Komplexität der Systeme, was wiederum eine geeignete Analytik fordert. Für Cellulose basierte Materialien und deren Derivate haben sich im Laufe der Zeit drei Richtungen für die Analyse der Strukturen etabliert.[13] Zum einen können an diesen Materialien Streuexperimente durchgeführt werden, bei denen elektromagnetische Wellen mit der periodischen Struktur der Cellulose wechselwirken. Hierbei wird am häufigsten die Röntgenstreuung verwendet. Eine weitere Möglichkeit bilden die Infrarot- und Ramanspektroskopie. Beide Methoden regen frequenzabhängig Vibrationen im System an. Durch die Peakpositionen können Rückschlüsse über die Struktur getroffen werden. Eine dritte Methode für die Analyse der Strukturen der Cellulose ist die Nuclear Magnetic Resonance (Kernspinresonanz) (NMR). Mit dieser Methode lassen sich unterschiedliche chemische Umgebungen durch die Resonanz des Kernspins in einem externen Magnetfeld untersuchen. Die hier dargelegte Doktorarbeit setzt hauptsächlich die NMR als Charakterisierungsmethode ein. Die Grundlagen dieser Methode werden in Kapitel 3 detaillierter dargelegt.

Wie zahlreiche Veröffentlichungen[14–21] zeigen ist die NMR eine sehr gute Methode um Cellulose basierte Materialien zu bestimmen. So ist es mittels Festkörper NMR möglich das Verhältnis von geordneteren (kristallinen) zu ungeordneteren (amorphen) Anteilen zu analysieren. Zusätzlich bietet die Festkörper NMR eine sehr gute Möglichkeit chemische und strukturelle Änderungen in der Cellulose zu untersuchen. Diese Analysen werden im Kapitel 4.1 an einem verhältnismäßig einfachen System eingeführt. Dieses System besteht aus Papierfasern, welche unter Verwendung von 2,2,6,6 Tetramethylpiperinidylloxyl (TEMPO) oxidiert wurden. Dabei stellt die Oxidation eine erste Form der Funktionalisierung der Fasern dar. Durch die Reaktion der –OH Gruppen zu –COOH Gruppen werden diese für chemische Reaktionen, zum Beispiel mit Aminen, leichter zugänglich. In Kapitel 4.2 wird ein System betrachtet, bei dem –COOH Gruppen über einen Aminlinker verknüpft werden und somit das System für verschiedene Anwendungen wie beispielsweise nassfeste Papiere nutzbar gemacht werden kann.[22, 23] Als Basismaterial wurde hier Hydroxypropylcellulose (HPC) gewählt, welches ein Cellulosederivat ist und eine größere Oberfläche als Cellulosefasern oder Papiere aufweist. Um die Struktur dieses Systems aufklären zu können ist es notwendig die Verknüpfung des Aminlinkers mit der HPC mit  $^{15}\text{N}$  NMR zu untersuchen. Durch das kleine gyromagnetischen Verhältnis der  $^{15}\text{N}$  Kerne ist es erforderlich die Sensitivität der NMR zu steigern. Eine Möglichkeit bietet hier die Festkörper Dynamic Nuclear Polarization (Dynamische Kernspinpolarisation) (DNP), welche in Kapitel 3.3 genauer beschrieben wird. Hierbei wird die deutlich höhere Polarisation der Elektronen verwendet und

---

diese auf die Kerne übertragen.

Diese Technik wurde bereits in anderen Arbeiten verwendet um die Sensitivität zu steigern und so strukturelle Untersuchungen an Cellulose basierten Systemen durchzuführen.[24–32] In Kapitel 5 wird zusätzlich zu der Struktur auch die Interaktion der Trägermaterialien mit den eingebrachten Molekülen untersucht. Als Modellmolekül wurde ein Farbstoffmolekül gewählt (Calcofluor White) und als Trägermaterial wurde sowohl Papier, als auch Chitosan untersucht. Dieses System wurde bereits in optischen ASE Experimenten erfolgreich verwendet.[11] Da sowohl Chitosan, als auch das Farbstoffmolekül Stickstoff enthält, welcher sehr sensitiv auf die chemische Umgebung und speziell auf Wasserstoffbrückenbindungen [33] ist, wurden hier ebenfalls Untersuchungen mit DNP verstärkter Festkörper NMR gemacht.

Um die Sensitivität der NMR noch weiter zu steigern können Spinlabel oder Isotopenmarkierungen verwendet werden. Als ein Spinlabel bieten sich  $^{19}\text{F}$  Kerne an, da diese ein hohes gyromagnetisches Verhältnis haben und in Cellulose basierten Trägermaterialien nicht vorkommen. Um sowohl das Spinlabel, als auch die Isotopenmarkierung auf ein Cellulose basiertes Trägermaterial aufbringen zu können, wurden Biofunktionalisierungen gewählt. So stellt die Anbindung einer Aminosäure auf Cellulose ein einfaches Modellsystem für Biofunktionalisierungen dar. Als Trägermaterial werden in dieser Arbeit sowohl Papier als auch MCC verwendet, wobei letzteres eine größere Oberfläche aufweist. Dadurch lässt sich eine höhere Beladung erzielen, sodass auch anspruchsvollere Pulssequenzen in DNP verstärkten Festkörperexperimenten verwendet werden können. Die Untersuchungen mit einer Isotopenmarkierung zur Sensitivitätssteigerung werden in Kapitel 6.2 an der Aminosäure Glycin vorgestellt, welche sowohl auf Papier als auch MCC angebunden wird. Um ein  $^{19}\text{F}$  Spinlabel einzubringen wird die geschützte Aminosäure Boc-*cis*-F-L-Prolin (Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ )) verwendet, welche auf Papier angebunden wird. Die Ergebnisse dazu werden in Kapitel 6.3 diskutiert.

Die in den Kapiteln 6.2 und 6.3 eingeführten NMR Techniken werden in Kapitel 6.4 auf komplexere Biofunktionalisierungen übertragen. Hierfür wird ein Tetrapeptid als Modell verwendet, welches auf MCC angebunden wird. Dieses Modellsystem ermöglicht zudem die Durchführung einer Reihe von komplexeren DNP verstärkten 1D und 2D Festkörper NMR Experimenten mit denen die Anbindung des Peptides an MCC zweifelsfrei nachgewiesen werden kann.

---

# 3 Theorie

---

## 3.1 Grundlagen der NMR

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der NMR in verkürzter Form wiedergegeben. Eine ausführliche Beschreibung der NMR kann in der Fachliteratur [34, 35] nachgelesen werden.

Die NMR basiert darauf, dass Kerne einen Drehimpuls haben. Dieser Drehimpuls wird als Spin bzw. Kernspin ( $\vec{I}$ ) bezeichnet und ist mit einem magnetischen Moment  $\vec{\mu}$  über

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \quad (3.1)$$

verknüpft. Dabei wird  $\gamma$  als gyromagnetisches Verhältnis bezeichnet, eine Konstante, die kernartspezifisch ist.

Wechselwirkt der Kern nun mit einem externen Magnetfeld, so kann diese Wechselwirkung durch den Zeemann Hamiltonian beschrieben werden:

$$\hat{H} = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0. \quad (3.2)$$

Zur Vereinfachung wird angenommen, dass das externe Magnetfeld  $B_0$  konstant ist und in  $z$ -Richtung zeigt. Die Energieeigenwerte zu diesem Hamiltonian sind gegeben als:

$$E_m = -\gamma \hbar B_0 m \quad (3.3)$$

Dabei ist  $m = [I, I - 1, \dots, -I]$  die magnetische Quantenzahl und  $I$  der Kernspin. Für Kerne mit einem Spin  $I \neq 0$  findet eine Aufspaltung der Energieniveaus im externen Magnetfeld statt. Dieses Phänomen wird als Zeemaneffekt bezeichnet.

Alle folgenden Kalkulationen beziehen sich auf einen Kern mit einem Spin  $I = \frac{1}{2}$ . Somit ist die Aufspaltung als  $\Delta E = \hbar \omega_0$  mit der sogenannten Lamorfrequenz  $\omega_0$  gegeben. Letztere ist über die Beziehung  $\omega_0 = \gamma B_0$  direkt proportional zum externen Magnetfeld. Der Kernspin präzediert mit der Lamorfrequenz um das externe Magnetfeld  $B_0$ .

Die Besetzung der Energiezustände im thermischen Gleichgewicht ist über die Boltzmann Verteilung

$$\frac{N_m}{N} \propto \exp\left(\frac{E_m}{k_B T}\right) \quad (3.4)$$

gegeben. Soll ein Ensemble an Kernen der gleichen Spezies analysiert werden ist es hilfreich als erstes die Magnetisierung dieses Ensembles zu betrachten, welche als

$$\vec{M} = \sum_N \vec{\mu} \quad (3.5)$$

definiert ist.

Diese Magnetisierung wird sich entlang des externen Magnetfeldes  $B_0$  in  $z$ -Richtung ausrichten. Über die Zeit wird sich die Magnetisierung folgendermaßen verhalten:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0. \quad (3.6)$$

Um diese Differentialgleichung lösen zu können ist es hilfreich ein rotierendes Koordinatensystem (RKS) mit der Frequenz  $\omega_{RKS}$  zu definieren. In Resonanz muss dieses rotierende Koordinatensystem der Larmorfrequenz  $\omega_{RKS} = \omega_0$  entsprechen. Für alle anderen Fälle wird  $\Delta\omega = \omega_0 - \omega_{RKS}$  definiert.

Wird nun ein zeitabhängiges Magnetfeld  $B_1$ , welches senkrecht zu  $B_0$  steht, mit der Frequenz  $\omega_{RKS}$  an das System angelegt ist es hilfreich die verschiedenen Richtungen separat zu betrachten.

$$\left(\frac{dM_x}{dt}\right)_{RKS} = -\Delta\omega M_{y,RKS} + \omega_1 M_z \quad (3.7)$$

$$\left(\frac{dM_y}{dt}\right)_{RKS} = \Delta\omega M_{x,RKS} \quad (3.8)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = -\omega_1 M_z \quad (3.9)$$

Für  $\Delta\omega=0$  und einem angelegten  $B_1$  Feld in  $\hat{e}_y$ -Richtung wird die Magnetisierung im rotierenden Koordinatensystem um  $\hat{e}_y$  präzessieren. Die Magnetisierung lässt sich durch einstrahlen eines Wechselfeldes  $B_1$  um einen beliebigen Winkel kippen.

Wird dieses angelegte Magnetfeld  $B_1$  wieder ausgeschaltet so lassen sich mehrere Effekte im System beobachten. Ein Effekt ist die sogenannte Spin-Gitter Relaxation, welche mit der Zeitkonstante  $T_1$  verknüpft wird. Wie der Name bereits impliziert wird die Energie des Spins an ein Reservoir, das sogenannte Gitter, abgegeben. Somit relaxiert das System in den thermischen Gleichgewichtszustand zurück, was lediglich die Zeitabhängigkeit der  $z$ -Komponente der Magnetisierung beeinflusst.

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_\infty}{T_1} \quad (3.10)$$

$$\rightarrow M_z(t) = (M_z(0) - M_\infty) \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \quad (3.11)$$

Neben der Spin-Gitter Relaxation gibt es die Spin-Spin Relaxation oder transversale Relaxation, welche mit der Zeitkonstanten  $T_2$  verknüpft ist. Hierbei interagieren die Spins miteinander und als Resultat verändern sich die Phasenbeziehungen der Spins zueinander, was sich in der Zeitabhängigkeit der Magnetisierung in  $x$ - und  $y$ -Richtung zeigt.

Der Zerfall der  $x$ - $y$ -Magnetisierung nach Einstrahlen eines Pulses wird im abklingenden Zeitsignal dem Free Induction Decay (Freier Induktionszerfall) (FID) sichtbar. Dieses Zeitsignal lässt sich mit Hilfe der Fouriertransformation (FT) in die Frequenzdomäne überführen, sodass sich ein Spektrum ergibt.

## 3.2 Festkörper NMR

### 3.2.1 Wechselwirkungen

In der NMR spielen neben der Zeemanwechselwirkung lokale Interaktionen eine Rolle. Zum einen kommt es zu einer Interaktion des Kernspins mit der chemischen Umgebung. Außerdem kann es durch räumliche

Wechselwirkungen zweier Kernspins zu dipolaren Interaktionen kommen. Zusätzlich kann es zu Interaktionen eines elektrischen Quadrupolmoments kommen und zu einer indirekten Spin-Spin Interaktion (Skalare Kopplung bzw. J-Kopplung). Die letzteren beiden werden im folgenden nicht weiter betrachtet, da lediglich Spins mit  $I=1/2$  betrachtet werden bzw. im Fall der J-Kopplungen die Interaktion klein gegenüber der Breite der Signale im Festkörperspektrum ist.

## Chemische Verschiebung

Betrachtet man die einzelnen Kerne des Systems in einer Probe, so fällt auf, dass sie nicht alle die gleiche Larmorfrequenz besitzen und somit im Spektrum in der Frequenzdomäne Signale bei verschiedenen Frequenzen auftreten. Dieser Effekt wird durch die chemische Umgebung der Kerne hervorgerufen. Dabei schirmt die Elektronenwolke, die den Kern umgibt, den Spin ab und sorgt somit für die verschiedenen Larmorfrequenzen.

$$\omega_L = \gamma B_0(1 - \sigma). \quad (3.12)$$

Hierbei ist  $\sigma$  der Abschirmungsfaktor.

Um die Werte besser handhaben zu können und diese einfacher zwischen verschiedenen Spektrometern bzw. Feldern vergleichen zu können gibt es die von der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) vorgeschlagene Konvention, diese Werte in Referenz zu einer anderen Probe anzugeben. Dieses wird als chemische Verschiebung mit  $\delta$  abgekürzt.

$$\delta_{\text{Probe}} = \left( \frac{\omega_{\text{Probe}} - \omega_{\text{Referenz}}}{\omega_{\text{Referenz}}} \right) \cdot 10^6 \text{ ppm} \quad (3.13)$$

Dadurch lassen sich Kerne an verschiedenen Positionen der chemischen Struktur des Moleküls identifizieren. Der Abschirmungsfaktor ist ein Tensor, welcher in einen isotropen und anisotropen Anteil unterteilt werden kann. Der isotrope Anteil enthält die rotationsgemittelten Informationen über die chemische Verschiebung. Der anisotrope Anteil hingegen beschreibt, wie weit der Tensor von einer sphärisch symmetrischen Kugel abweicht. Wird zusätzlich die Hochfeldnäherung angewendet sieht der Hamiltonian für die chemische Verschiebung folgendermaßen aus:

$$\hat{H}_{CS} = \gamma B_0 \sigma_{z,z} \hat{I}_z \quad (3.14)$$

## Dipolare Kopplung

Die dipolare Kopplung beschreibt eine direkte Wechselwirkung der Kerne durch den Raum. Diese Größe ist vom Winkel zwischen der Verbindungslinie zwischen den Kernen relativ zum externen  $B_0$  Feld abhängig. Der Hamiltonian für die dipolare Kopplung in der Hochfeldnäherung ist gegeben als

$$\hat{H}_D = -\frac{\mu_0}{4\pi} \hbar \frac{\gamma_I \gamma_S}{r_{IS}^3} (\hat{I}_z \hat{S}_z - \frac{1}{4} (\hat{I}_+ \hat{S}_- + \hat{I}_- \hat{S}_+)) (1 - 3 \cos^2 \theta) \quad (3.15)$$

Da die dipolare Kopplung abhängig von der Distanz der Kerne zueinander ist, können durch ihre Messung Abstände zwischen zwei Kernen bestimmt werden. Die dipolare Kopplung zweier Protonen in einem

---

Abstand von 1 Å beträgt ungefähr  $2\pi \cdot 120,19$  kHz. Aus diesem Wert lässt sich bei Kenntnis der dipolaren Kopplungskonstante  $\omega_D$  der Abstand für beliebige Kernpaare über die Gleichung

$$r_{12}^3 = 2\pi \cdot 120,19 \text{ kHz} \cdot \frac{\gamma_1 \cdot \gamma_2}{\gamma_H^2} \cdot \frac{1}{\omega_D} \quad (3.16)$$

berechnen.

### 3.2.2 MAS

Die Orientierungsabhängigkeit der chemischen Verschiebung und der dipolaren Wechselwirkung spiegeln sich in einer großen Linienbreite in den Festkörper NMR Spektren wider. Mathematisch enthalten viele anisotrope Wechselwirkungen den Faktor  $3 \cdot \cos^2 \Theta - 1$ . Dieser Term wird für einen Winkel von  $54,74^\circ$  null. Beim MAS wird die Probe in einem Rotor gepackt, welcher in einem Winkel von  $54,74^\circ$  relativ zum  $B_0$  Feld rotiert wird. Das führt dazu, dass ein isotropes Signal und Rotationsseitenbanden, welche einen Abstand von der Rotationsfrequenz oder ein ganzzahliges Vielfaches davon haben, beobachtet werden. Somit bietet MAS eine effiziente Lösung diese Wechselwirkungen herauszumitteln. [36]

### 3.2.3 Pulssequenzen

Ein Spinsystem kann durch eine Pulsfolge manipuliert werden und aus dem thermischen Gleichgewicht ausgelenkt werden. Anschließend findet eine zeitliche Entwicklung statt. Eine der einfachsten Möglichkeiten stellt dabei eine Auslenkung der z-Magnetisierung in die x-y-Ebene dar, in der die zeitliche Entwicklung der x-y-Magnetisierung detektiert werden kann. Um jedoch spezifischere Informationen aus dem Spinsystem zu erhalten ist es notwendig spezifische Pulsfolgen mit einem bestimmten Ziel anzuwenden. Die in dieser Arbeit verwendeten Pulsfolgen sind im folgenden kurz dargestellt.

### Kreuzpolarisation

Die Cross Polarization (Kreuzpolarisation) (CP) ist eine Pulsfolge mit der Polarisation von einem höher polarisierten Kernen auf einen niedriger polarisierten Kerne übertragen werden kann. Dabei wird meist die Polarisation von  $^1\text{H}$  oder  $^{19}\text{F}$  auf Kerne wie  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$ , usw. übertragen. Die Übertragung der Polarisation basiert dabei auf Flip-Flop Prozessen. Der Prozess wird durch Einstrahlen eines Pulses ermöglicht, welcher die Hartmann-Hahn Bedingung [37] erfüllt. Diese wird erfüllt, wenn jeweils das Produkt aus gyromagnetischem Verhältnis und eingestrahlem  $B_1$  Feld für beide Kernsorten gleich sind, also  $\gamma_I \cdot B_{1,I} = \gamma_S \cdot B_{1,S}$ . Dadurch verringert sich zwar die Polarisation der höher polarisierten Kerne, jedoch gewinnt die andere Kernsorte an Polarisation. Unter MAS ist die Bedingung modifiziert. Um trotzdem einen effizienten Polarisationstransfer zu erreichen wird oft kein Puls mit konstanter Amplitude eingestrahlt, sondern eine Rampe genutzt, welche von 50-100% der Leistung geht. Dadurch wird zumindest zeitweise die Übertragungsbedingung erfüllt. In Abbildung 3.1 ist die Pulsfolge schematisch dargestellt. Zunächst wird die Polarisation der  $^1\text{H}$  Kerne mit einem  $90^\circ$  in die x-y-Ebene transferiert. Im Anschluss wird ein Spin-Lock-Feld auf dem  $^1\text{H}$  Kanal eingestrahlt und parallel eine Rampe auf dem zweiten Kanal verwendet um einen effizienten Polarisationstransfer zu erhalten. Alternativ könnte die Rampe auch auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet werden. Danach lässt sich das Signal auf dem zweiten Kanal aufnehmen. Während der Datenaufnahme wird meistens eine Entkopplung zwischen den beiden Kernarten eingestrahlt, um die

---

Linienbreite zu verringern.

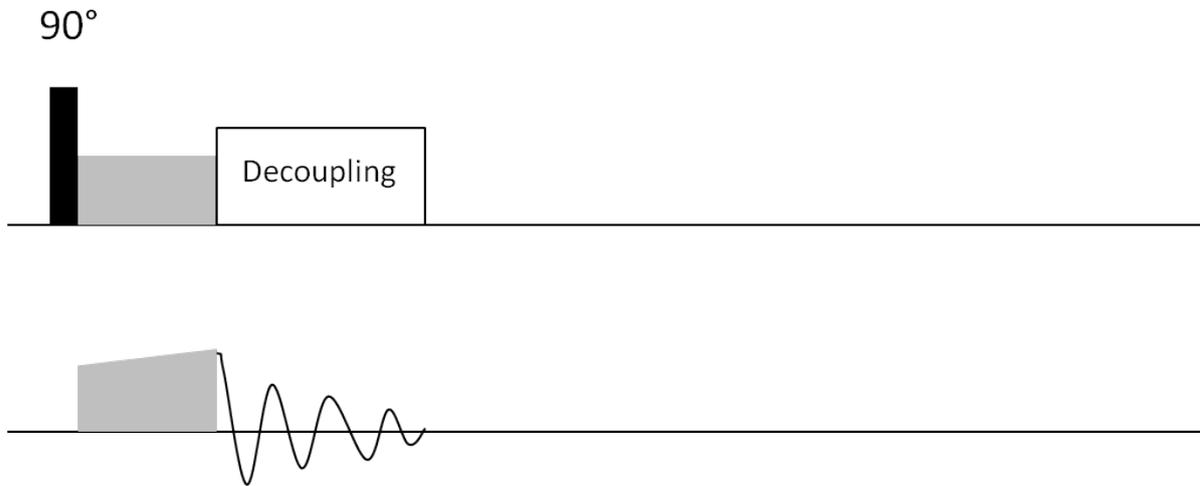


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung der Pulssequenz für das Kreuzpolarisationsexperiment.

### Saturation Recovery

Die Saturation Recovery Pulsfolge wird verwendet um die Aufbauzeit bzw.  $T_1$  Zeit der Kerne zu bestimmen. Bei der Saturation Recovery Pulsfolge wird eine Sättigung durch  $90^\circ$  Pulse mit einem geringen zeitlichen Abstand zueinander erreicht. Anschließend wird eine Aufbauzeit gewartet und die Magnetisierung mit Hilfe eines  $90^\circ$  Pulses detektiert (siehe Abbildung 3.2). Wird nun die Aufbauzeit variiert lässt sich der Aufbau der Magnetisierung messen. Wird an diese Datenpunkte die Funktion aus Gleichung 3.11 angefügt lässt sich die Aufbauzeit bzw. die  $T_1$  Zeit berechnen. Insgesamt sollte darauf geachtet werden, dass genügend Sättigungspulse verwendet werden um eine Sättigung zu erreichen, jedoch die Probe dabei nicht durch die Pulse zu stark erhitzt wird. In der Flüssigkeits NMR wird für die Bestimmung von  $T_1$  meistens ein Inversion Recovery Experiment verwendet, welches auf der Invertierung der Magnetisierung basiert. Da es in der Festkörper NMR oftmals nicht ganz einfach ist einen  $90^\circ$  Puls oder Inversionspuls ( $180^\circ$ ) zu bestimmen ist hier das Saturation Recovery Experiment zu bevorzugen.

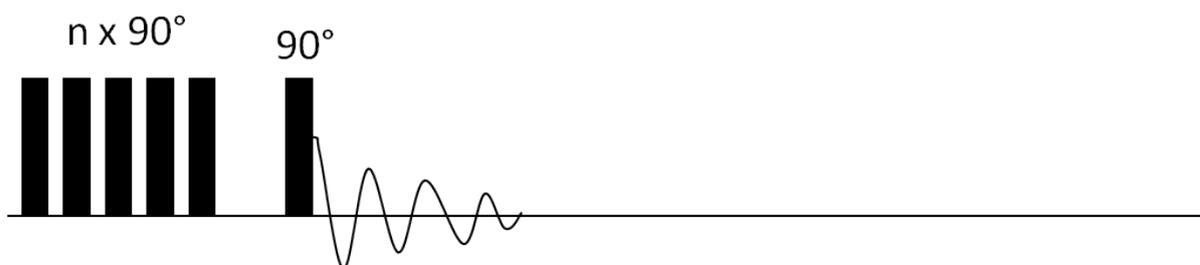


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung der Pulssequenz für das Saturation Recovery Experiment.

### Rotational-Echo Double-Resonanz (REDOR)

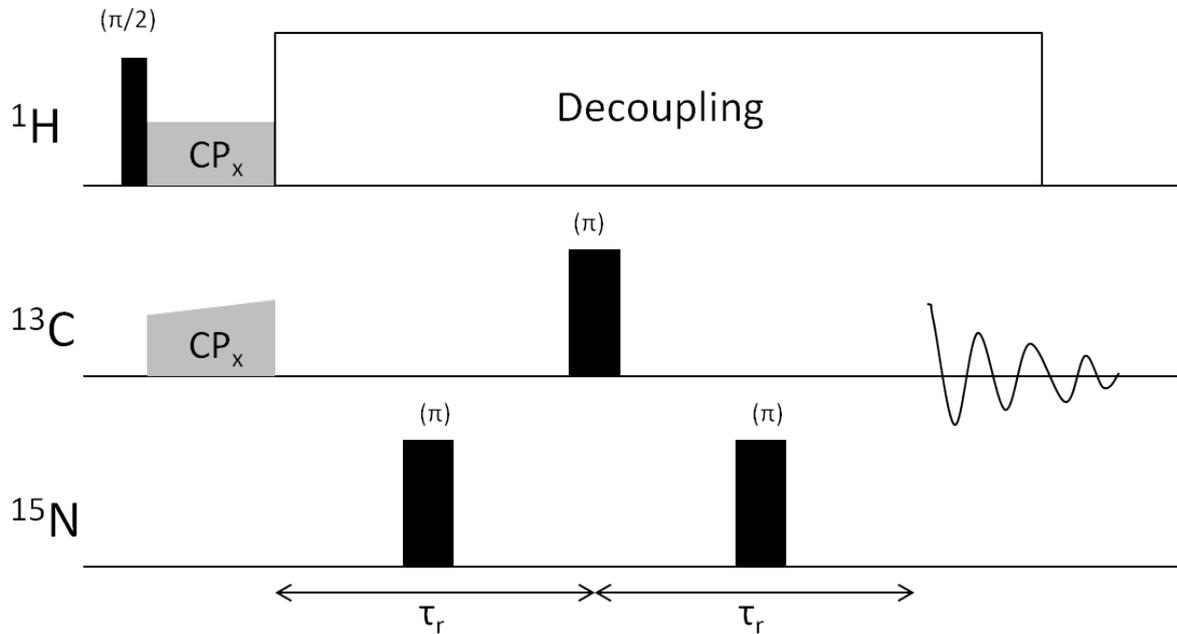


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung der Pulssequenz für das REDOR Experiment. Adaptiert von [38]

Die REDOR Pulsfolge bietet eine Möglichkeit Informationen über die dipolare Kopplung zwischen zwei Kernen zu erhalten. Über die dipolare Kopplung lassen sich Rückschlüsse über den mittleren Abstand dieser Kerne zueinander erhalten.

Bei der REDOR[38] Pulssequenz wird zunächst die Polarisation mittels einer CP Pulsfolge on  $^1\text{H}$  auf den zu detektierenden Kern, in unserem Fall  $^{13}\text{C}$  übertragen. Als nächstes werden auf einem dritten Kanal ( $^{15}\text{N}$ )  $180^\circ$  Pulse rotorsynchron eingestrahlt (siehe Abbildung 3.3). Unter der dipolaren Kopplung folgen die  $^{13}\text{C}$  Kerne dieser Inversion. Je stärker die dipolaren Kopplungen, desto eher wird der  $^{13}\text{C}$  Kern dem  $^{15}\text{N}$  Kern folgen. Dadurch kann eine Dephasierung beobachtet werden, die von der Anzahl der eingestrahlt Pulse und der Stärke der Wechselwirkung abhängt. Zusätzlich wird ein Referenzexperiment durchgeführt, bei dem die gleiche Pulsfolge ohne  $180^\circ$  Pulse auf dem  $^{15}\text{N}$  Kanal aufgenommen wird. Während der Datenaufnahme wird eine heteronukleare Entkopplung durchgeführt. Für die Auswertung wird meistens  $\Delta S$  über die Dephasierungszeit  $t$  dargestellt. Dabei ist  $\Delta S$  definiert als

$$\Delta S = \frac{S_{ref} - S_{REDOR}}{S_{ref}} \quad (3.17)$$

Wobei  $S_{ref}$  die Signalfäche der Messungen ohne  $180^\circ$  Pulse und  $S_{REDOR}$  die Signalfäche der Messungen mit  $180^\circ$  Pulsen entspricht. Der daraus erhaltene Graph kann dann mit der Funktion [39]

$$A \cdot (1 - J_0(\sqrt{2} \cdot t \cdot D))^2 + 2 \cdot \sum_{k=1}^{\infty} \frac{1}{16k^2 - 1} (J_k(\sqrt{2} \cdot t \cdot D))^2 \quad (3.18)$$

gefittet werden um die Kopplungskonstante  $D$  in  $[D]=\text{Hz}$  zu erhalten. Diese Funktion ist über Besselfunktionen  $J_k$  definiert, welche sich durch eine Taylorreihenentwicklung vereinfachen lassen.  $A$  ist die

Amplitude und  $t$  die Dephasierungszeit. Details zur Fitfunktion können in der Veröffentlichung von Müller [39] nachgelesen werden.

## DQrotreson

Die DQrotreson Pulsfolge kann verwendet werden um die dipolare Kopplung zweier  $^{13}\text{C}$  Kerne zu untersuchen. Hierbei wird die Einkopplung der dipolaren Kopplung nicht durch starke Radiofrequenzfelder sondern mechanisch durch die Rotationsresonanz erreicht. Dabei muss ein Signal direkt auf der Anregungsfrequenz liegen und die Frequenzdifferenz zum dipolar gekoppelten Kern muss möglichst genau der Rotationsfrequenz oder einem ganzzahligen Vielfachen der Rotationsfrequenz entsprechen. Dies führt zu einer Aufspaltung der Signale aus denen sich die dipolare Kopplung durch die semiempirische Formel [40]

$$b_{IS} = 2\pi\sqrt{8} \cdot (1,15(\Delta\omega_{split}/2\pi) + 7) \quad (3.19)$$

ableiten lässt. Dabei ist  $b_{IS}$  die homonukleare dipolare Kopplungskonstante und  $\Delta\omega_{split}$  die Frequenzaufspaltung des Signals. Die zugrunde liegende Theorie von Levitt et al.[41] sagt für die Linienform eine Verteilung aus Funktionen mit Singularitäten voraus. Aus der dipolaren Kopplung lässt sich mittels der Formel

$$r_{IS}^3 = -\frac{\mu_0}{4\pi} \cdot \frac{\gamma^2\hbar}{b_{IS}} \quad (3.20)$$

eine internukleare Distanz berechnen.[40]

Handelt es sich bei dem untersuchten System um ein Vielspinsystem kann es notwendig werden die verschiedenen dipolaren Kopplungen zu filtern. Eine Möglichkeit besteht darin Doppelquanten anzuregen und mittels des Anregungsintervalls  $\tau_{exc}$  zu filtern (siehe Abbildung 3.4), wodurch nur ein bestimmter Frequenzbereich an dipolaren Kopplungen ausgesucht wird.

Eine detailliertere Beschreibung sowie eine mathematische Berechnung finden sich in den Quellen [42–45].

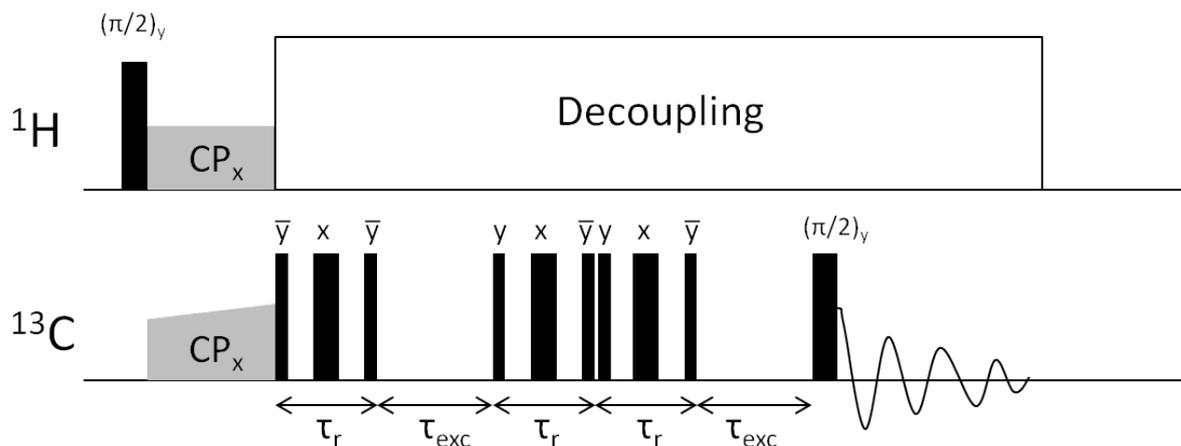


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung der Pulssequenz für das DQrotreson. Adaptiert von [42]

## Dipolar Assisted Rotational Resonance (DARR)

Beim DARR Experimente handelt es sich um ein homonukleares  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  Korrelationsexperiment, mit dem die räumliche Nähe zwischen zwei  $^{13}\text{C}$  Kernen untersucht werden kann. [46] Die Pulsfolge ist in Abbildung 3.5 schematisch dargestellt. Zunächst wird die Polarisation der Protonen mittels CP auf den  $^{13}\text{C}$  Kern übertragen, welche sich in der chemischen Verschiebung unter Protonenkopplung entwickelt. Anschließend wird die  $^{13}\text{C}$  Magnetisierung mit einem  $\pi/2$  Puls in der z-Achse gespeichert. Durch die folgende Mischzeit kann sich die Polarisation zwischen den einzelnen Kernen über die dipolare Kopplung austauschen und dann unter der entwickelten chemischen Verschiebung detektiert werden. Dadurch ergibt sich ein 2D-Spektrum, welches die Korrelation zwischen den beiden chemischen Verschiebungen aufträgt und die räumliche/dipolare Korrelation zwischen den  $^{13}\text{C}$  Kernen widerspiegelt.[47, 48]

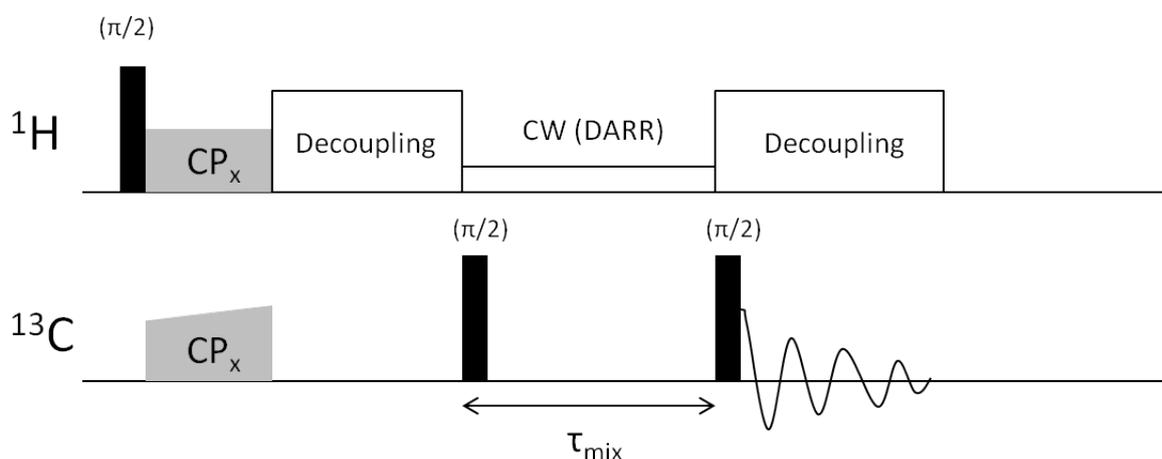


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung der Pulssequenz für das DARR. Adaptiert von [48]

## 3.3 Festkörper DNP

### 3.3.1 Allgemeines zur Festkörper DNP

Insbesondere für 2D Spektren und Systeme ohne Isotopenmarkierung kann es notwendig werden die Sensitivität der NMR zu erhöhen um die Messzeit in einem sinnvollen Rahmen zu halten. Im Allgemeinen hängt die Sensitivität eines Kerns vom gyromagnetischen Verhältnis  $\gamma$ , und von seiner natürlichen Häufigkeit ab. Um Ersteres zu umgehen kann die CP Pulsfolge verwendet werden und die Polarisation eines Kernes mit einem höheren gyromagnetischen Verhältnis transferiert werden. Um die Isotopenhäufigkeit zu erhöhen, können die zu untersuchenden Kerne angereichert werden, was jedoch sehr kostenintensiv sein kann und geeignete Markierungsstrategien erfordert. Deswegen wurden Techniken zur weiteren Erhöhung der Sensitivität im Festkörper entwickelt, welche unter dem Stichwort Hyperpolarisationstechniken zusammengefasst werden. Eine Möglichkeit ist die Chemical Induced Dynamic Nuclear Polarisation (CIDNP), bei der Hyperpolarisation über thermisch bzw. optisch erzeugte Radikale generiert wird. Anwendung findet diese Technik in biologischen Systemen.[49, 50] Außerdem gibt es die Spin Exchange Optical Pumping (SEOP) Technik, welche durch optisches Pumpen Hyperpolarisation erzeugt. Diese findet hauptsächlich Anwendung in der Untersuchung von porösen Systemen mit  $^{129}\text{Xe}$ . [51] Zusätzlich gibt es Ansätze die Parahydrogen

Induced Polarisation (PHIP) Technik, welche hauptsächlich in flüssig NMR verwendet wird, im Festkörper nutzbar zu machen. Dieser Ansatz basiert darauf, eine paarweise Hydrierung mit Parawasserstoff an Oberflächen durchzuführen.[52, 53]

Für die in dieser Arbeit untersuchten Proben eignen sich diese Techniken nur bedingt. Zum einen erfordert jede Technik einen sehr spezifischen experimentellen Aufbau. Außerdem sind für die PHIP Technik keine hydrierfähigen Gruppen in Cellulose vorhanden und die SEOP Technik wäre eher dazu geeignet die Interaktionen zwischen Cellulose und Edelgasen zu untersuchen.

Deswegen wird in dieser Arbeit die Hyperpolarisationstechnik der Festkörper DNP verwendet, welche im folgenden näher erläutert wird.

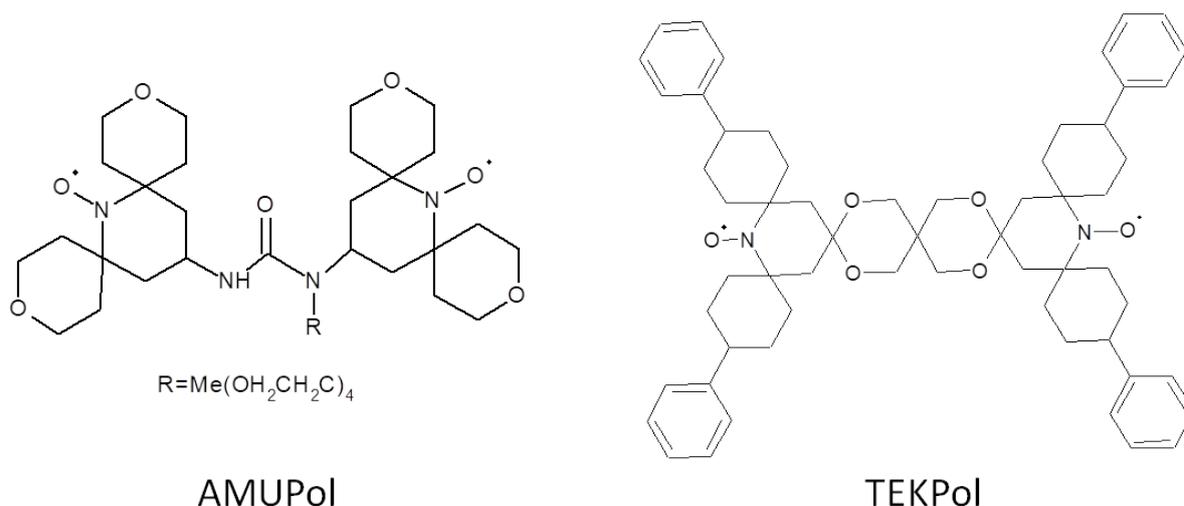


Abbildung 3.6: Schematische Darstellung der in dieser Arbeit verwendeten Radikale AMUPol und TEKPol.

Bei der DNP werden freie Elektronen als Polarisationsquelle verwendet, da diese eine 660 mal größere Polarisation haben als Protonen. Um DNP realisieren zu können werden freie Elektronen benötigt. Als Quelle fungieren in diesem Fall Radikale, mit einem oder mehreren freien Elektronen. In Abbildung 3.6 sind die Strukturen der in dieser Arbeit verwendeten Radikale (AMUPol[54] und TEKPol[55]) abgebildet. Die detaillierten Mechanismen für den Polarisationstransfer auf Kerne sind in den nachfolgenden Unterkapiteln erläutert.

Dabei ist es bei allen Mechanismen notwendig Mikrowellenstrahlung (MW) in die Probe einzubringen. Die MW wird in einem Gyrotron erzeugt, welches Mikrowellen mit der Frequenz von 263 GHz bereitstellt, die über einen Wellenleiter in den Probenkopf geleitet und auf den Rotor fokussiert werden.

Da durch die MW stetig Wärme in das System eingebracht wird, muss dieses gleichzeitig gekühlt werden, um eine Erhitzung der Probe zu vermeiden. Ein weiterer Vorteil der Kühlung ist, dass der Polarisationstransfer bei tieferen Temperaturen effektiver ist. Dementsprechend wird das System mit gasförmigem Stickstoff auf ca. 110 K gekühlt und auch die MAS-Einheit mit gasförmigem Stickstoff betrieben.

Für die Probenpräparation werden die oben erwähnten Radikale zunächst in Lösung gebracht und im Anschluss die Probe damit imprägniert. Dabei muss für einen guten Polarisationstransfer das Radikal im Lösemittel gelöst sein und darf nicht aggregieren. Außerdem muss das Lösemittel bei 110 K gefrieren, sodass ein Festkörper entsteht. Damit der Polarisationstransfer effizient ist muss das System aus Lösemittel und Probe ein amorphes System bilden und sollte keinen Kristall formen. Die durch die DNP erhaltene Verstärkung des Signals entspricht der Wurzel aus der Zeitersparnis, sodass eine Verstärkung von  $\epsilon = 100$

etwa einer Zeitersparnis von  $100^2 = 10000$  entspricht.

Im Folgenden wird auf die verschiedenen Mechanismen zum Polarisationstransfer eingegangen, genauer sind diese unter anderem in den Veröffentlichungen [56–58] beschrieben.

### 3.3.2 Solid-Effekt

Im einfachsten Fall lässt sich der DNP Polarisationstransfer durch den Solid Effekt beschreiben. Dieser beruht darauf, dass ein Zweispinsystem betrachtet wird, welches aus einem Elektron und einem Kernspin besteht, die hyperfein gekoppelt sind. Im thermischen Gleichgewicht in Abbildung 3.7 links sind der Elektronenspinresonanz (EPR) sowie der NMR Übergang gezeigt. Der NMR Übergang hat dabei jedoch nur eine geringe Populationsdifferenz, was für die geringe Sensitivität der NMR verantwortlich ist. Durch die MW werden die Doppelquanten- oder Nullquantenübergänge angeregt, welche durch die Hyperfeinkopplung und das Mischen der Zustände partiell erlaubt sind. Dies führt zu einem Ausgleich der Populationsdifferenz wie in Abbildung 3.7 rechts gezeigt. Somit hat sich die Populationsdifferenz für den NMR Übergang erhöht und es kommt zu einer Verstärkung der Signale. Die Verstärkung kann sowohl positiv als auch negativ sein, abhängig davon, welcher Übergang angeregt wird. Dieser Effekt tritt bei Radikalen mit geringen Linienbreiten in der EPR auf und wird ineffizienter für höhere  $B_0$  Felder.

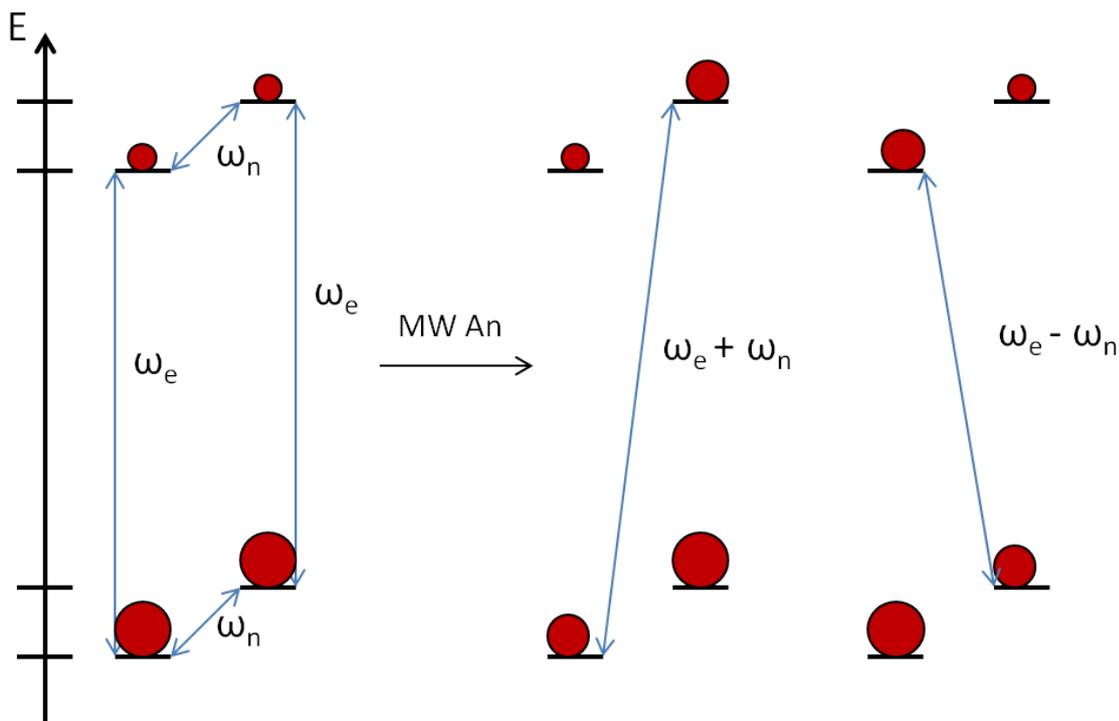


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung des Solid-Effekts. Links ist der Zustand eines Elektrons und eines Kerns im thermischen Gleichgewicht gezeigt. In der Mitte und Rechts ist jeweils der Zustand für positive und negative Verstärkung gezeigt. Der NMR Übergang ist mit  $\omega_n$  und der EPR Übergang mit  $\omega_e$  bezeichnet. Adaptiert von [59]

### 3.3.3 Cross-Effekt

Der Cross-Effekt ist im Vergleich zum Solid-Effekt deutlich komplexer, da hierbei die Interaktion zwischen einem Kern und zwei freien Elektronen betrachtet wird. Voraussetzung ist die dipolare Kopplung zwischen den Elektronenspins, sowie eine Hyperfeinkopplung zwischen Elektronenspin und Kernspin. Dementsprechend ergibt sich für das Levelschemata in Abbildung 3.8 ein komplexeres Bild. Auf der linken Seite ist der Zustand im thermischen Gleichgewicht gezeigt und die NMR Übergänge sind eingezeichnet. Wenn die Differenz der Frequenz der EPR Übergänge der Frequenz des NMR Übergangs entspricht, also  $|\omega_{e1} - \omega_{e2}| \approx \omega_n$ , entarten zwei Energielevel wie in Abbildung 3.8 gezeichnet. Dadurch kommt es zu einem Populationsausgleich zwischen den vier verbundenen Energieleveln wie in Abbildung 3.8 rechts gezeigt. Dies führt zu einer erhöhten Populationsdifferenz im NMR Übergang und somit zu einer Verstärkung des Signals.

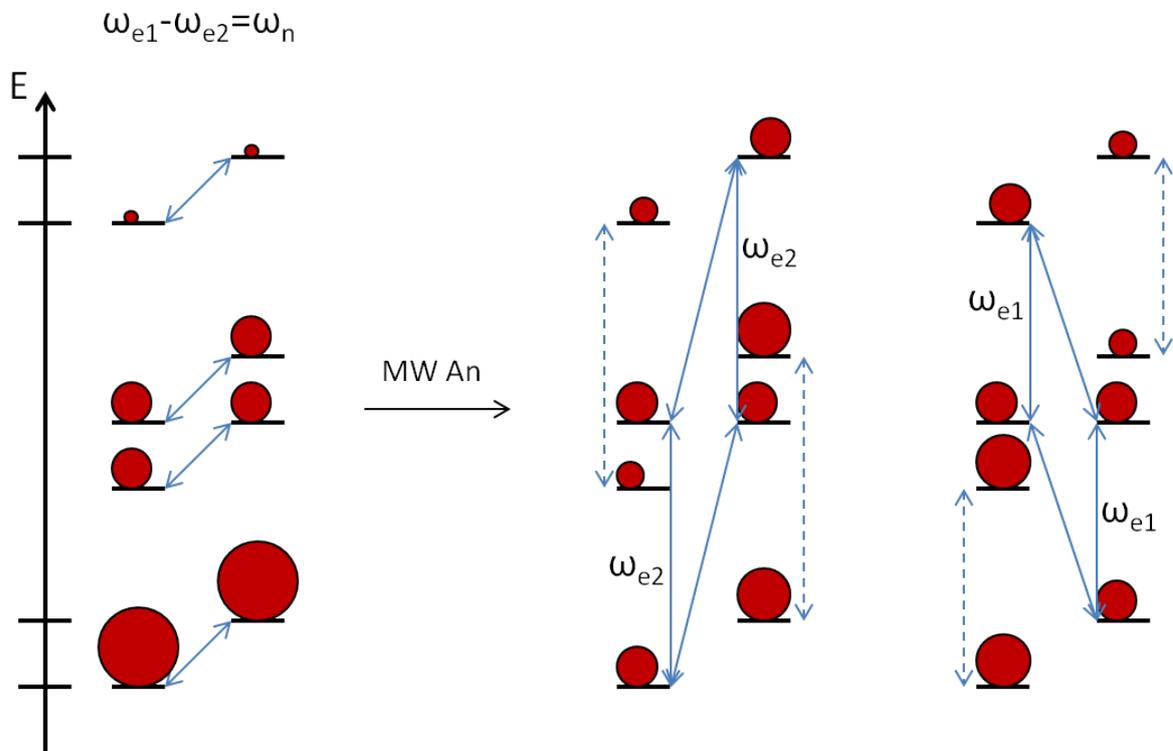


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung des Cross-Effekts. Links ist der Zustand zweier Elektronen und eines Kerns im Equilibrium gezeigt. In der Mitte und Rechts ist jeweils der Zustand für positive und negative Verstärkung gezeigt. Der NMR Übergang ist mit  $\omega_n$  und die EPR Übergänge mit  $\omega_{e1}$  und  $\omega_{e2}$  bezeichnet. Adaptiert von [59]

### 3.3.4 Thermal Mixing

Der Thermal Mixing Mechanismus basiert auf einem Multielektron Spinsystem, welches eine dipolare Kopplung haben muss, und einem Kern, welcher dazu hyperfeingekoppelt ist. Der Polarisationstransfer des Thermal Mixing tritt klassischerweise bei hohen Radikalkonzentrationen und tiefen Temperaturen ( $<$

---

10 K) auf.[57] Die Experimente in dieser Arbeit wurden bei 110 K durchgeführt, sodass dieser Polarisationstransfermechanismus für die vorliegende Arbeit nicht von Bedeutung ist.

### 3.3.5 Overhauser Effekt

Der Overhauser Effekt[60] beschreibt den Polarisationstransfer zwischen zwei gekoppelten Spins mit unterschiedlichen  $\gamma$  Werten, z.B. zwischen einem Kernspin und einem Elektronenspin. Bei diesem Effekt werden die Elektronenspinübergänge durch die MW gesättigt. Damit dieses System zurück in das thermische Gleichgewicht gelangt müssen Kreuzrelaxationsprozesse zwischen Elektron und Kern stattfinden. Dabei wird die Polarisation von dem Elektron auf den Kern übertragen. Durch unterschiedliche Relaxationsraten zwischen den Null- und Doppelquantenübergängen kann es so zu einer Vergrößerung der Populationsdifferenz der Kernspinzustände kommen. Dieser Kreuzrelaxationsprozess wird durch die Modulation der Hyperfeinkopplung hervorgerufen, welche vor allem durch dynamische Prozesse erzeugt wird.

### 3.3.6 Spindiffusion

Neben der in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Polarisationsübertragung von einem freien Elektron zu einem Kern kann die Polarisation auch zwischen Kernen übertragen werden. Eine Möglichkeit stellt hier die Spindiffusion dar, welche den Transport von Polarisation durch den Raum beschreibt. Dabei spielt die dipolare Kopplung eine entscheidende Rolle. Durch die Spindiffusion wird eine gleichmäßige Polarisation über das ganze System generiert. Besonders effizient ist diese bei Kernen mit großem gyromagnetischen Verhältnis und hoher natürlicher Häufigkeit, wie  $^1\text{H}$  oder  $^{19}\text{F}$ .

---

## 4 Chemische Modifizierung von Cellulose

---

### 4.1 TEMPO oxidierte Baumwollfasern

#### 4.1.1 Einleitung

In den vergangenen Jahren haben spezialisierte Anwendungen von funktionellen Papieren, wie beispielsweise für lab-on-a-chip Geräte oder  $\mu$ PADs [61], deutlich an Aufmerksamkeit gewonnen und eine Intensivierung von Forschungsaktivitäten hervorgerufen.[6, 62–65] Da Cellulose basierte Materialien und deren Derivate bereits seit langer Zeit im Fokus der Forschung stehen gibt es bereits eine Vielfalt an bedeutenden Materialien wie Celluloseether und Acetate, die heute beispielsweise in der Pharmazie[66] oder für die Produktion von Polymermembranen[67] eingesetzt werden können. Funktionalisierungsstrategien verwenden häufig Hydroxylgruppen als Reaktionspartner, die in Cellulose vorkommen.[68] Durch ihre Einbindung in Wasserstoffbrückennetzwerke haben sie jedoch häufig eine geringe Reaktivität. Die Hydroxylgruppen lassen sich jedoch durch die bekannte TEMPO vermittelte Oxidation mit einer hohen Ausbeute in C=O-Gruppen umwandeln. Diese Reaktion lässt sich in einer wässrigen Umgebung mit einem leicht alkalischen pH Wert von 10-11 hauptsächlich an primären Hydroxylgruppen durchführen. Da diese primären Hydroxylgruppen nur am C<sub>6</sub> der Cellulose zu finden sind, ermöglicht diese eine regioselektive Umwandlung.[69]

TEMPO ist ein Nitroxylradikal, welches die Oxidation der primären Hydroxylgruppen unter der Anwesenheit von Natriumhypochlorid (NaClO) als primärer Oxidant und Natriumbromid (NaBr) als Kokatalysator, katalysiert. In einer wässrigen Umgebung und einem pH Wert von 10-11 führt sie zur Bildung von Carboxylgruppen an der C<sub>6</sub> Position des Cellulosestrangs. Dabei wird die primäre Hydroxylgruppe zunächst in eine Aldehydgruppe oxidiert und dann in einem weiteren Oxidationsschritt in eine Carboxylgruppe konvertiert.[69–73]

Oxidationsreaktionen mit TEMPO wurden erstmals 1965 von Golubev et al. [74] beschrieben, die TEMPO in äquimolaren Mengen einsetzten. In den darauf folgenden Jahren war die Forschung darauf bedacht die Menge an TEMPO, welche für die Reaktionen benötigt werden, durch die Verwendung von NaClO und NaBr[75] zu reduzieren. Außerdem wurde die TEMPO initiierte Oxidation auf lösliche Polysaccharide wie Glucane und Stärke [69, 71, 72, 76] und unlösliche Polysaccharide wie Cellulose, Amylose und Chitin [77] angewendet. Seit dieser Zeit wurde eine große Anzahl an Arbeiten über die Kinetik der Oxidation, sowie der physikalisch-chemischen Eigenschaften der oxidierten Cellulose veröffentlicht. Ein Vorreiter in diesem Gebiet ist die Gruppe um Isogai, welche eine Reihe an Forschungsarbeiten publiziert haben.[70, 78–90] Ebenso gilt dies für die Kinetik der Oxidation und deren Abhängigkeit von den gewählten Reaktionsparametern. [73, 78, 80, 91, 92] Unter diesen Veröffentlichungen zeigten sich jedoch einige Beobachtungen, die nicht erklärt werden konnten und/oder im Widerspruch zu anderen Arbeiten stehen. Die Details hierzu können in der Veröffentlichung von Hillischer et al.(Publikationsliste [4]) nachgelesen werden. Neben den geometrischen und morphologischen Untersuchungen sind <sup>13</sup>C NMR Studien ein wichtiger Baustein um die Struktur der Cellulosefasern zu analysieren. [15, 20, 79, 93, 94] Im Vergleich zu funktionalisierten Papieren stellen die oxidierten Cellulosefasern ein relativ einfaches System dar, deren Funktionalisierung mit <sup>13</sup>C

---

Festkörper NMR quantifiziert werden kann. Außerdem kann diese Technik verwendet werden um geordnete und ungeordnete Domänen in den Cellulosefasern zu unterscheiden, wodurch eine Regioselektivität in der Oxidation nachgewiesen werden kann, wie in den folgenden Abschnitten gezeigt wird.

## 4.1.2 Methoden

### Festkörper NMR Experimente

Alle Festkörper NMR Experimente an den TEMPO oxidierten Proben und unbehandelten Baumwollfasern wurden unter MAS an einem Bruker Avance III 300 MHz Spektrometer, welches mit einem H/X Breitbandprobenkopf ausgestattet ist, gemessen. Die Spektren wurden bei einem Magnetfeld von 7,05 T aufgenommen. Dies entspricht einer Frequenz von 300,11 MHz für  $^1\text{H}$  und 75,47 MHz für  $^{13}\text{C}$ . Das Probenmaterial wurde in einen 4 mm  $\text{ZrO}_2$  Rotor gepackt und mit einer Frequenz von 8 kHz rotiert. Alle Messungen wurden mit einer CP MAS Pulssequenz aufgenommen, die eine lineare Rampe am  $^1\text{H}$  Kanal während des Kontakts verwendet. Die Kontaktzeit wurde auf 2 ms gesetzt. Während der 49 ms langen Akquisitionszeit wurde eine Two Pulse Phase Modulation (TPPM)[95] Sequenz für die heteronukleare Protonenentkopplung angewendet. Die Wiederholzeit wurde auf 2 s gesetzt und für jedes Spektrum wurden 2048 Scans durchgeführt. Adamantan (38,5 ppm) wurde als externer Standard für die Referenzierung der Spektren auf Tetramethylsilan (TMS) (0 ppm) verwendet.

Im Allgemeinen sind  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren nicht quantitativ, jedoch können sie verwendet werden, um das Verhältnis zwischen geordneten (kristallinen) und ungeordneten (amorphen) Anteilen in Cellulose in guter Näherung zu berechnen. Außerdem kann die Bildung von Carboxylatgruppen durch die TEMPO Oxidation als Funktion der Reaktionsbedingungen identifiziert werden.[79, 96–99].

Um die Spektren (Anhang Abbildung 6.21, 6.22, 6.23) zu analysieren wurden die Flächen der verschiedenen Peaks durch Integration der Signale in den Bereichen von 181,4–170 ppm (C=O), 114,1–97,3 ppm ( $\text{C}_1$ ), 93,6–86 ppm (kr.  $\text{C}_4$ ), 86–80,1 ppm (am.  $\text{C}_4$ ), 67,9–64 ppm (kr.  $\text{C}_6$ ) und 64–58,3 ppm (am.  $\text{C}_6$ ) bestimmt. In Abbildung 4.2 wurde  $I_{ox.}/I_{C_1}$  durch Dividieren der Fläche des C=O Signals durch die Fläche des  $\text{C}_1$  Signals für die gemessenen Spektren (Anhang Abbildung 6.21, 6.22, 6.23) berechnet. Dabei wurde der  $\text{C}_1$  Peak als Referenzpeak verwendet, da für diesen während der TEMPO Oxidation keine signifikante Änderung in der Festkörper NMR zu beobachten war. In Abbildung 4.3 wurde  $I_{am.}/I_{kr.}$  durch Dividieren der Fläche der ungeordneten (amorphen) Anteile durch die Fläche der geordneteren (kristallinen) Anteile für das  $\text{C}_4$  und  $\text{C}_6$  Signal berechnet. Diese Analyse wurde für drei Chargen für jede Probe durchgeführt und der Mittelwert wurde bestimmt und dargestellt. Der Fehler ergibt sich aus der Standardabweichung der Messwerte zum Mittelwert.

## 4.1.3 Ergebnisse und Diskussion

Um die chemische Struktur der nativen Fasern zu vergleichen wurden  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren aufgenommen. Exemplarisch ist ein Spektrum einer natürlichen Faser im Vergleich zu einem Spektrum einer TEMPO oxidierten Faser in Abbildung 4.1 gezeigt. Das Signal bei 175 ppm, welches aus mindestens zwei überlagerten Signalen zusammengesetzt ist, kann eindeutig den Carboxylgruppen zugeordnet werden, welche durch die TEMPO Oxidation erzeugt wurden. Alle anderen Peaks im Spektrum können den Kohlenstoffen  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  der Cellulose zugeordnet werden.[73, 100]

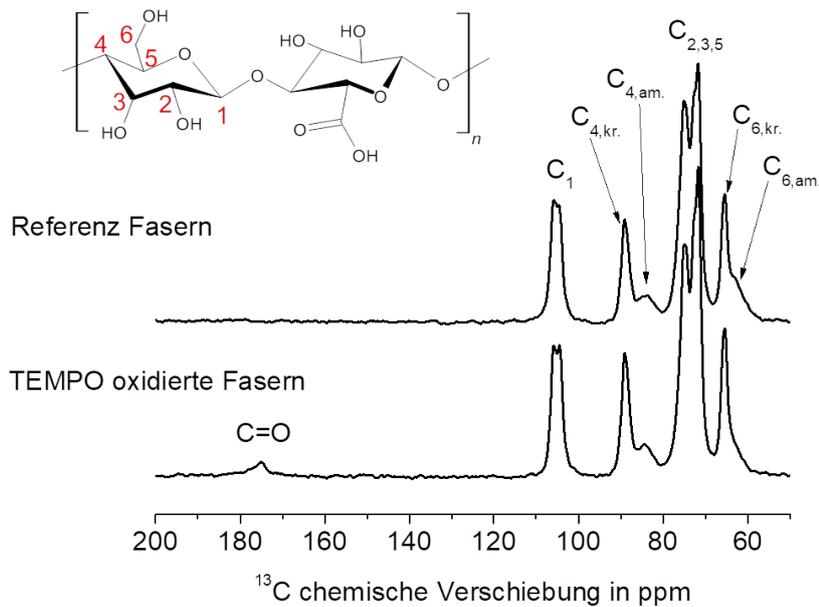


Abbildung 4.1:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren TEMPO oxidierter Fasern im Vergleich mit unoxidierten Fasern sowie eine Zuordnung der Signale. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

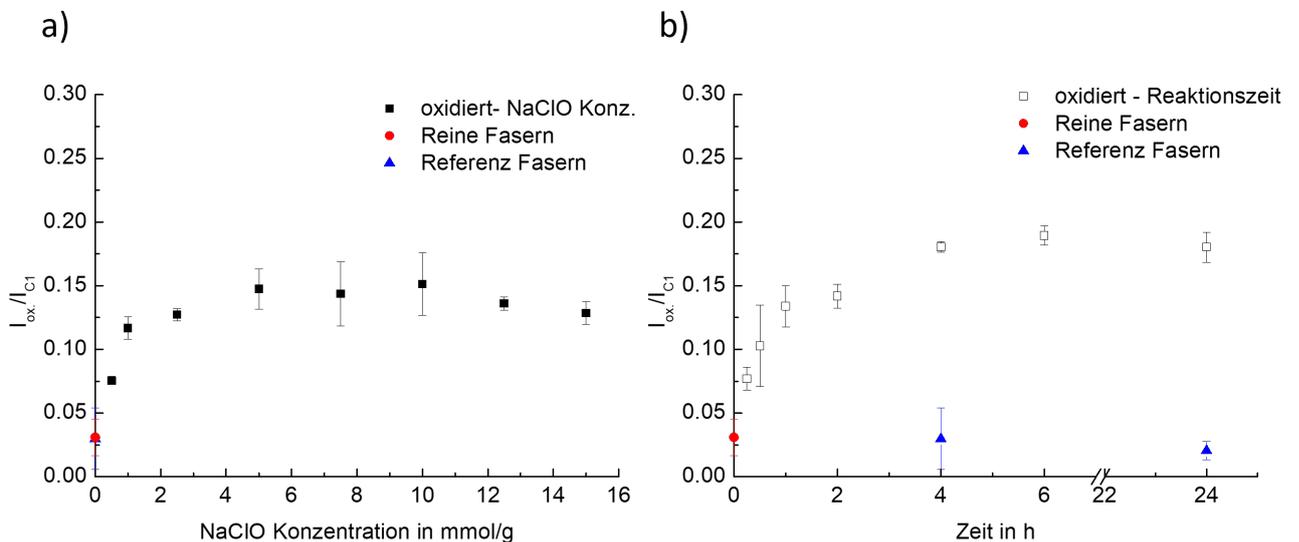


Abbildung 4.2: Anteil der oxidierten Fraktionen in den untersuchten Faserproben ermittelt durch  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR. Die Anteile sind als Funktion der NaClO Konzentration (A) bzw. der Oxidationszeit (B) aufgetragen. Anmerkung: Die Proben wurden bei einem pH Wert von 10,5 oxidiert. Die Referenzproben wurden unter gleichen Bedingungen untersucht, jedoch ohne Zusatz von TEMPO und NaClO (blaue Dreiecke). Die Blindproben zeigen unbehandelte Baumwollfasern (rote Kreise). Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

Durch Division der Peakfläche  $I_{ox.}$  des C=O Peaks durch die Peakfläche  $I_{C1}$  des C<sub>1</sub> Peaks, ähnlich wie in der Veröffentlichung von Ono et. al. [73] beschrieben, kann die Oxidationskinetik für verschiedene NaClO Konzentrationen oder Oxidationszeiten abgebildet werden. Die zugehörigen Graphen sind in Abbildung 4.2 gezeigt. Das Verhältnis der Flächen steigt bis zu einer NaClO Konzentration von 5 mmol/g bzw. einer Oxidationszeit von 4 h, flacht danach ab und erreicht ein Plateau. Daneben konnten Änderungen in der Struktur während der TEMPO Oxidation unter Verwendung der C<sub>4</sub> und C<sub>6</sub> Signale analysiert werden, da die Signale der ungeordneteren (amorphen) Anteile  $C_{4,am.}$  und  $C_{6,am.}$  eine Hochfeldverschiebung von etwa 4 ppm im Vergleich zu den Signalen der geordneteren (kristallinen) Anteile  $C_{4,kr.}$  und  $C_{6,kr.}$  aufweisen. Durch Berechnen von  $I_{am.}/I_{kr.}$  für die Signale des C<sub>4</sub> oder C<sub>6</sub> konnte ein Verhältnis zwischen den ungeordneten zu den geordneteren Anteilen abgeschätzt werden. Um den Einfluss der TEMPO Oxidation auf dieses Verhältnis zu prüfen, ist das Verhältnis über den Carboxylgehalt für das C<sub>4</sub> und C<sub>6</sub> jeweils in Abbildung 4.3A und 4.3B aufgetragen. Der Verlauf zeigt klar, dass das Verhältnis für das C<sub>4</sub> Signal über den beobachteten Carboxylgehalt konstant bleibt. Im Vergleich dazu zeigt das Verhältnis des C<sub>6</sub> Signals eine signifikanten Verringerung des Carboxylgehaltes um etwa 34% für die TEMPO oxidierten Fasern. Dies lässt darauf schließen, dass die Oxidation am C<sub>6</sub> bevorzugt abläuft, da die oxidierten Anteile keinen Beitrag mehr zum C<sub>6</sub> Signal leisten. Die Summation der Flächen des  $C_{6,am.}$  Signals ( $I_{am.} C_6$ ) und des C=O Signals ( $I_{ox.}$ ) und die anschließende Division durch die Fläche des  $C_{6,kr.}$  Signals ( $I_{kr.} C_6$ ) zeigt im Rahmen der Fehler konstante Werte für variierende NaClO Konzentrationen (siehe Abbildung 4.4). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die oxidierten Anteile zum C=O Signal beitragen. Die Verringerung von  $I_{am.}/I_{kr.}$  des C<sub>6</sub> Signals zeigt, dass hauptsächlich die ungeordneteren Anteile durch die TEMPO Oxidation oxidiert werden. Diese Ergebnisse sind im Einklang mit den Ergebnissen von Montanari et al. [93].

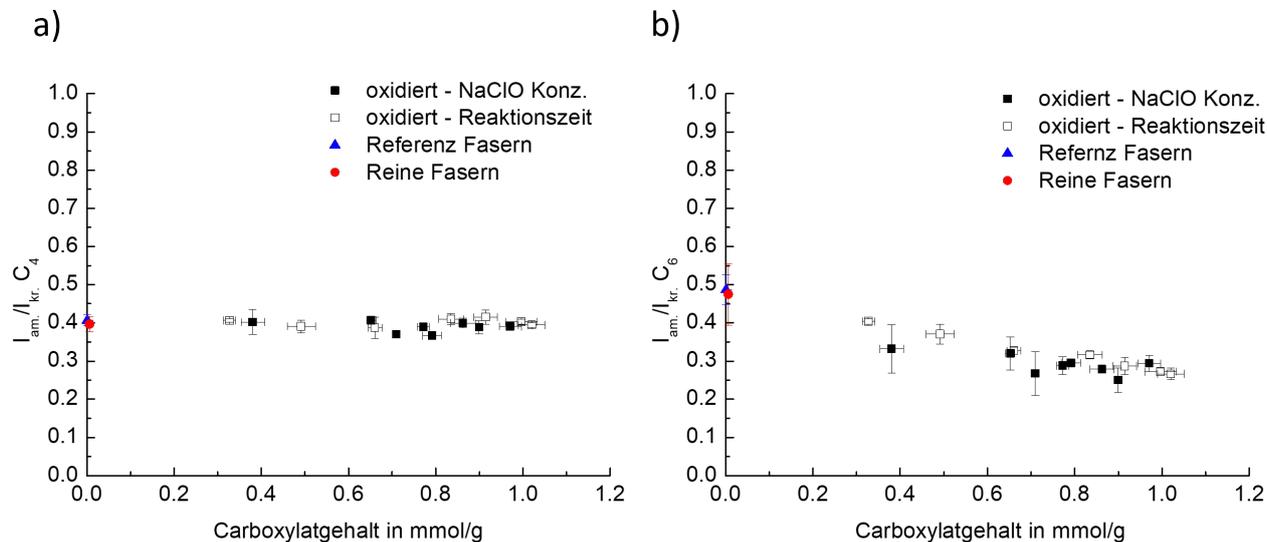


Abbildung 4.3: Verhältnis zwischen den ungeordneten und geordneteren Anteilen des C<sub>4</sub> (a) und C<sub>6</sub> (b) berechnet aus der Analyse der  $^1H \rightarrow ^{13}C$  CP MAS NMR Spektren der untersuchten Baumwollfasern. Die Verhältnisse sind als Funktion des Carboxylgehaltes aufgetragen. Leere Quadrate zeigen die Werte für die Oxidation bei verschiedenen Oxidationszeiten und die ausgefüllten Quadrate zeigen die Oxidation bei verschiedenen NaClO Konzentrationen. Die Referenzproben (blaue Dreiecke) und die Blindprobe (rote Kreise) wurden wie im Experimentalteil beschrieben hergestellt. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

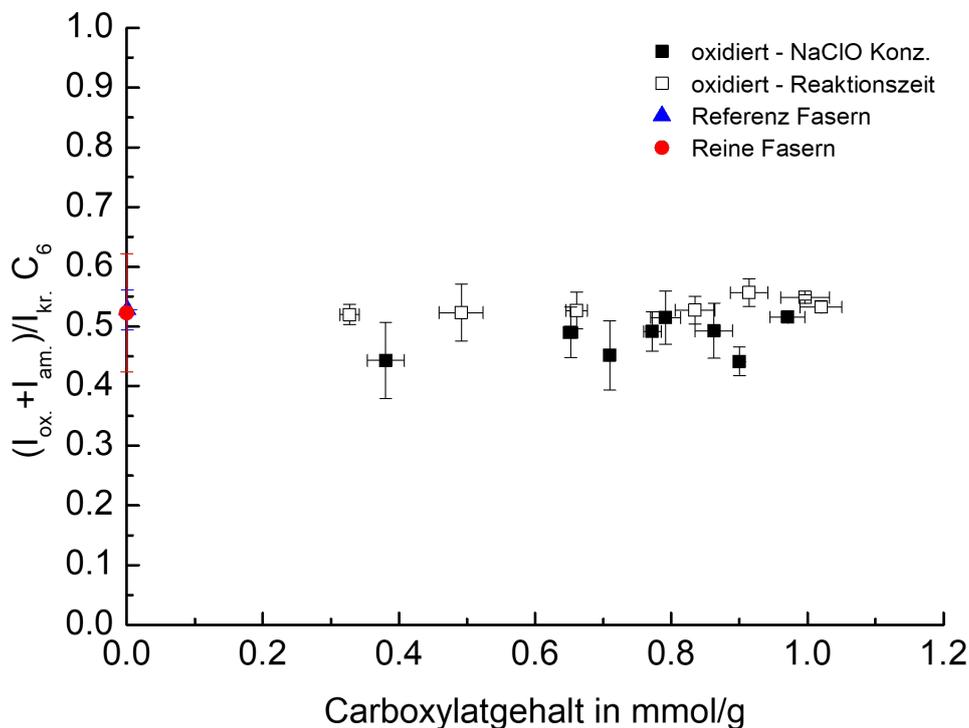


Abbildung 4.4: Verhältnis der Summe des  $C_{6,am.}$  ( $I_{am.} C_6$ ) Signals und des  $C=O$  ( $I_{ox.}$ ) Signals zum  $C_{6,kr.}$  ( $I_{kr.} C_6$ ) Signal, berechnet aus der Analyse der  $^1H \rightarrow ^{13}C$  CP MAS NMR Spektren, aufgetragen über den Carboxylatgehalt. Leere Quadrate zeigen die Werte für die Oxidation bei verschiedenen Oxidationszeiten und ausgefüllte Quadrate zeigen die Oxidation bei verschiedenen NaClO Konzentrationen. Die Referenzproben (blaue Dreiecke) und die Blindprobe (rote Kreise) wurden wie im Experimentaltail beschrieben hergestellt. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

#### 4.1.4 Fazit

Mit den  $^{13}C$  Festkörper NMR Analysen konnte gezeigt werden, dass die geordneteren (kristallinen) Anteile des  $C_4$  und  $C_6$  durch die TEMPO Oxidation nahezu unverändert bleiben, während die ungeordneten (amorphen) Anteile des  $C_6$  stark von der TEMPO Oxidation beeinflusst wurden. Dies lässt schlussfolgern, dass hauptsächlich in diesen Bereichen Carboxylate geformt werden. Durch diese Erkenntnis in Kombination mit den Ergebnissen aus weiteren physikalisch-chemischen sowie die morphologischen Messungen konnten einige offene Fragen im Bereich der Wassereinlagerung sowie des Quellverhaltens der oxidierten Fasern beantwortet werden. Die Details dazu sind in (Publikationsliste [4]) veröffentlicht.

---

## 4.2 Vernetzte Hydroxypropylcellulose

### 4.2.1 Einleitung

Cellulose und dessen Derivate haben in den letzten Jahren mehr und mehr Bedeutung in der Lebensmittel- und Pharmaindustrie gewonnen. Ein entscheidendes Merkmal hierfür ist die Ungiftigkeit des Materials. Ein etabliertes Beispiel hierfür ist Hydroxypropylcellulose (HPC), welche als Verdickungsmittel, [101] als Medikamentenverabreichungssystem oder als Bestandteil von Pillen verwendet wird. [66] HPC wird durch die Veresterung von alkalisch gelöster Cellulose mit Propylenoxid über eine Ringöffnungsreaktion hergestellt. Daraus resultiert eine mit 2-Hydroxypropylgruppen funktionalisierte Cellulose. 2-Hydroxypropylgruppen können erneut mit Propylenoxid reagieren, was zu einer 2-Hydroxypropylkette mit verschiedenen Polymerisierungsgraden führen kann. Durch diese Hydroxypropylketten hat HPC einige interessante Eigenschaften. Sie kann Flüssigkristallphasen, [102–105] sowie Filme bilden [106] und weist exzellente Löslichkeit in organischen Lösemitteln auf. [107, 108] Die daraus resultierende Forschung und Weiterentwicklung von HPC führt zu neuen Anwendungen für Medikamentenverabreichungssysteme. [109–113] Kürzlich wurde ein neuer Ansatz für die Verknüpfung von modifizierter HPC von Seelinger et. al. [22] gezeigt, welche das Ziel hatte Nassfestigkeit zu erreichen. Dabei wurde in einem ersten Schritt HPC mit TEMPO vermittelter Oxidation, wie sie im vorherigen Kapitel bereits eingeführt wurde, funktionalisiert. Diese Oxidation konvertiert die 2-Hydroxypropylketten zu Acetonen, was zu einer erhöhten Reaktivität gegenüber Aminen führt. In einem zweiten Schritt ist es damit möglich die oxidierte HPC mit primären Aminen über eine Schiff-Base Reaktion zu verknüpfen, um ein stabiles Hydrogel zu erzeugen. Jedoch ist der Verknüpfungsmechanismus für dieses neue System nicht vollständig verstanden und eine detaillierte Analyse des Polymernetzwerkes entscheidend für die Entwicklung neuer und die Optimierung bestehender Anwendungen.

Für die Analyse dieser Systeme stellt die Festkörper NMR eine leistungsfähige Technik dar, da mit ihr lokale Strukturen von modifizierter Cellulose untersucht werden können, was bereits in einigen Publikationen gezeigt wurde. [14, 15, 114] Wenn jedoch Kerne mit einem kleinen gyromagnetischen Verhältnis, wie  $^{15}\text{N}$ , oder geringer Anzahl an funktionellen Gruppen auf Cellulose untersucht werden sollen, ist es notwendig die Sensitivität der Festkörper NMR zu erhöhen. Eine Möglichkeit stellt die Verwendung der DNP dar, bei der die höhere Polarisierung der Elektronen auf Kerne übertragen wird. [56–58, 115, 116]

Die DNP verstärkte Festkörper NMR wurde bereits verwendet um verschiedene Fragen im Feld der Cellulose basierten Materialien zu beantworten. Berruyer et. al. [24, 25] charakterisierten Methylcelluloseether und konnten somit Proben unterscheiden, die mit anderen Analytikmethoden nicht unterscheidbar waren. Zhao et. al. [27, 117] analysierten die Immobilisierung von Rhodaminspiroamiden auf Cellulosenanokristallen, und verwendeten DNP verstärkte NMR um Informationen über das Wasserstoffbrückennetzwerk von Imidazol dotierter Cellulose zu erhalten. Kumar et. al. [29] untersuchte TEMPO oxidierte Nanofibrillen in Medikamenten.

In der vorliegenden Arbeit soll die DNP verstärkte NMR verwendet werden, um die chemischen Strukturen in der verknüpften HPC zu untersuchen. Dafür werden DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente sowie DNP verstärkten  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Experimente verwendet und analysiert.

## 4.2.2 Methoden

### Allgemein

Tabelle 4.1: Liste der Probenbezeichnung und Kurzbeschreibung

Probenbezeichnung	DNP Matrix	Aufbauzeit $T_B$	$^{13}\text{C}$ Verstärkung	Abbildungen
HPC	15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w)	2.3 s	$12 \pm 2$	4.5, 4.6
HPC ox.	15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w)	1.7 s	$12 \pm 2$	4.5, 4.7
HPC ox. + HMDA	15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w)	3.8 s	$2 \pm 1$	4.5, 4.8, 6.24
HPC ox. + HMDA	15 mM AMUPol Lösung in DMSO- $\text{d}_6/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w)	1.7 s	$3 \pm 1$	4.9

### DNP verstärkte Festkörper NMR Experimente

Für alle Festkörper DNP Messungen wurden 12 mg einer Probe mit 12  $\mu\text{l}$  der Radikallösung einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) bzw. DMSO- $\text{d}_6/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) imprägniert.

Alle Festkörper DNP NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 400 DNP Spektrometer mit einem Magnetfeld von 9,4 T aufgenommen, was einer Frequenz von 400,02 MHz für  $^1\text{H}$ , 100,59 MHz für  $^{13}\text{C}$  und 40,53 MHz für  $^{15}\text{N}$  entspricht. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf ausgestattet, welcher in der Konfiguration  $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  verwendet wurde, und einem 9,7 T Bruker Gyrotronsystem, welches MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Während der Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt (Aufbauzeiten  $T_B$  siehe Tabelle 4.1). Während der Akquisitionszeit von 30 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 1024 Scans gemessen und auf Trimethylsilylpropionat (TSP) (0 ppm) referenziert.

$^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Während der Kontaktzeit von 3.5 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt (Aufbauzeiten  $T_B$  siehe Tabelle 4.1). Während der Akquisitionszeit von 17 ms

wurde eine TPPM Entkopplung[95] angewendet. Die Anzahl der Scans für jedes Spektrum wurde zwischen 32768 und 114688 Scans angepasst. Alle Spektren wurden auf Ammoniumchlorid ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) (0 ppm) referenziert.

Um Verstärkungsfaktoren in den DNP verstärkten NMR Spektren zu erhalten wurde die Probe mit den gleichen Aufnahmeparametern mit und ohne MW gemessen. Der Faktor wurde berechnet, indem die Peakmaxima auf den gleichen Wert skaliert wurden. Der Fehler wurde abgeschätzt, indem der prozentuale Fehler des Rauschlevels für beide Spektren aufsummiert wurde.

### 4.2.3 Ergebnisse und Diskussion

#### $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DNP

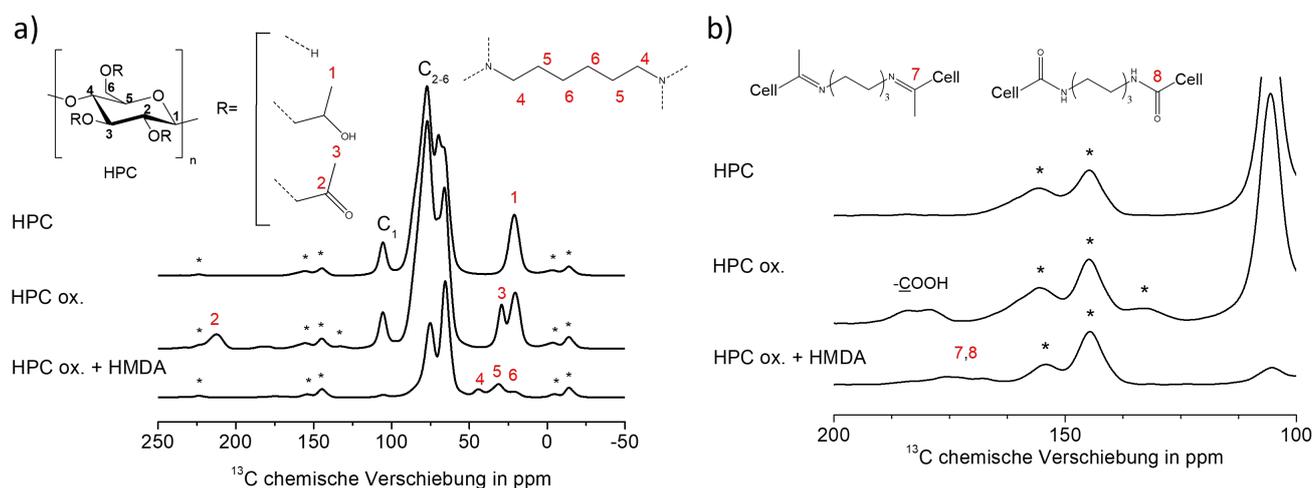


Abbildung 4.5: a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektren von HPC, oxidierter HPC und oxidierter HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix. b) Vergrößerung der Region von 100-200 ppm um schwächere Signale sichtbar zu machen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

In Abbildung 4.5 sind die DNP verstärkten  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von reiner HPC, oxidierter HPC und oxidierter HPC mit HMDA gezeigt. Im Bereich von 59-92 ppm sind mehrere Signale sichtbar, welche dem Glycerol in der DNP Matrix, sowie den  $\text{C}_{2-6}$  Kohlenstoffen der Cellulose zugeordnet werden können. Zusätzlich ist ein Peak bei 105,5 ppm sichtbar, welcher dem  $\text{C}_1$  der Cellulose zugeordnet werden kann. Dieser Peak kann verwendet werden, um den DNP Verstärkungsfaktor, wie im Methodenteil beschrieben, zu bestimmen. Als Verstärkungsfaktoren ergeben sich Werte von  $\epsilon = 12 \pm 2$ ,  $\epsilon = 12 \pm 2$  und  $\epsilon = 2 \pm 1$  für HPC, oxidierte HPC und oxidierte HPC mit HMDA (die zugehörigen MW An/Aus Spektren sind in Abbildung 4.6, 4.7, 4.8 gezeigt). Die Probe des oxidierten HPC mit HMDA zeigt eine deutlich geringere Verstärkung für das  $\text{C}_1$  der Cellulose im Vergleich zu HPC und oxidierter HPC. Der Grund hierfür liegt vermutlich an der geringen Kompatibilität des Materials mit der wässrigen Matrix.

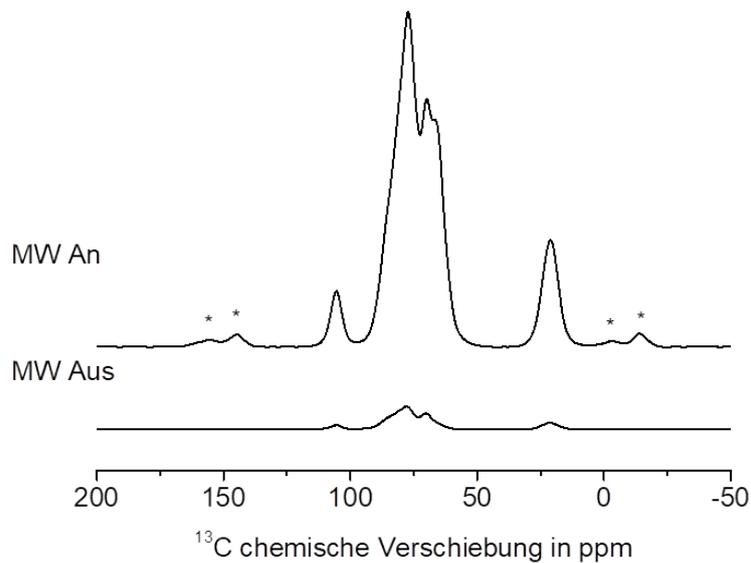


Abbildung 4.6:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektrum von HPC imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

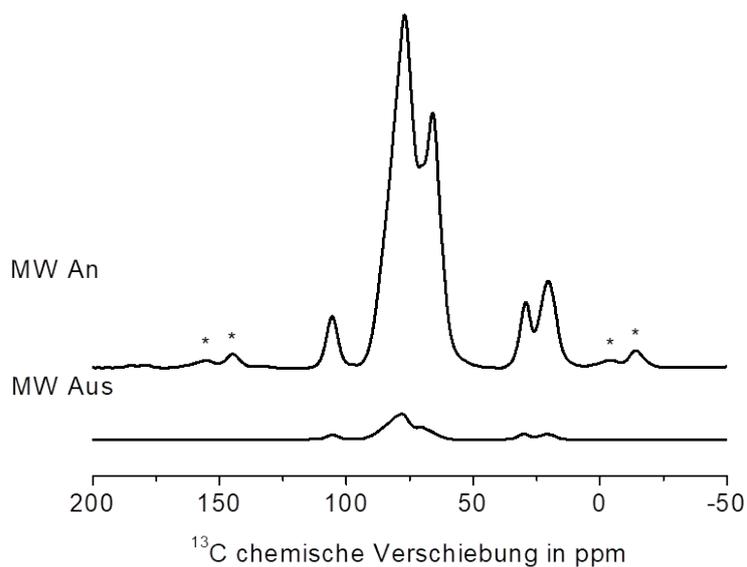


Abbildung 4.7:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektrum von oxidiertem HPC imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

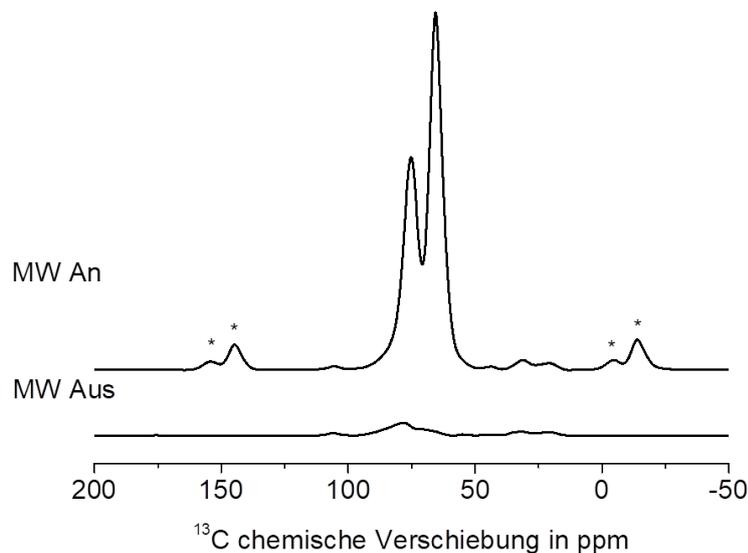


Abbildung 4.8:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektrum von oxidiertem HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

In reinem HPC ist ein Peak bei 21 ppm sichtbar, welcher der  $-\text{CH}_3$  Gruppe des HPC zugeordnet werden kann. Dieser Peak ist ebenfalls in den Spektren der oxidierten HPC und der oxidierten HPC mit HMDA zu finden. Das deutet darauf hin, dass die HPC nicht vollständig oxidiert wurde. Zusätzliche Signale im Spektrum sind bei 213 ppm, 185 ppm, 179 ppm und 29,5 ppm zu sehen. Die Signale bei 213 ppm und 29,5 ppm können den Kohlenstoffen in Acetylgruppen zugeordnet werden, welche sich durch die Oxidation bilden. Im Vergleich dazu weisen die Signale bei 185 ppm und 179 ppm geringe Intensität auf und sind in einer typischen Region für Carbonyl- und Carboxylgruppen zu finden.

Nach der Vernetzung mit HMDA sind Signale bei 173 ppm, 167,5 ppm, 44,5 ppm und 31,5 ppm sichtbar. Des Weiteren sind die Signale bei 213 ppm, 185 ppm und 179 ppm nicht mehr zu beobachten. Die Signale bei 173 ppm und 167,5 ppm können tendenziell den Kohlenstoffen in Iminen bzw. Amiden zugeordnet werden. Die Signale bei 44,5 ppm, 31,5 ppm und 21,5 ppm stammen vermutlich von den Kohlenstoffen in der aliphatischen Kette des HMDA. Das Signal bei 21,5 ppm ist dabei eine Überlagerung von Signalen des HMDA und der unoxidierten HPC.

### $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$ CP MAS DNP

Das DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Spektrum von oxidiertem HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Lösung zeigt einen dominierenden Peak bei -12 ppm (Anhang Abbildung 6.24). Dieser Peak kann primären Aminen zugeordnet werden, welche auf nicht umgesetzte Aminogruppen des HMDA Linker hindeuten.[119] Aufgrund der geringen Kompatibilität der DNP Matrix mit der Probe, welche durch die moderate Verstärkung in den  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren (Abbildung 4.8) veranschaulicht wird, wurde die Matrix durch eine 15 mM AMUPol  $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$

(6:3:1 w/w/w) Lösung ersetzt. Das zugehörige  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS DNP Spektrum ist in Abbildung 4.9 gezeigt. Neben dem Signal bei -12 ppm, welches durch den nicht gebundenen Linker verursacht wird, sind zusätzliche Signale bei 87 ppm und 286 ppm zu finden. Das Signal bei 87 ppm ist typisch für eine Amidgruppe und das Signal bei 286 ppm kann einer Imingruppe zugeordnet werden. [120] Diese Beobachtungen zeigen deutlich, dass der HMDA Linker mit der oxidierten HPC über eine Imin- und/oder Amidbindung verknüpft ist.

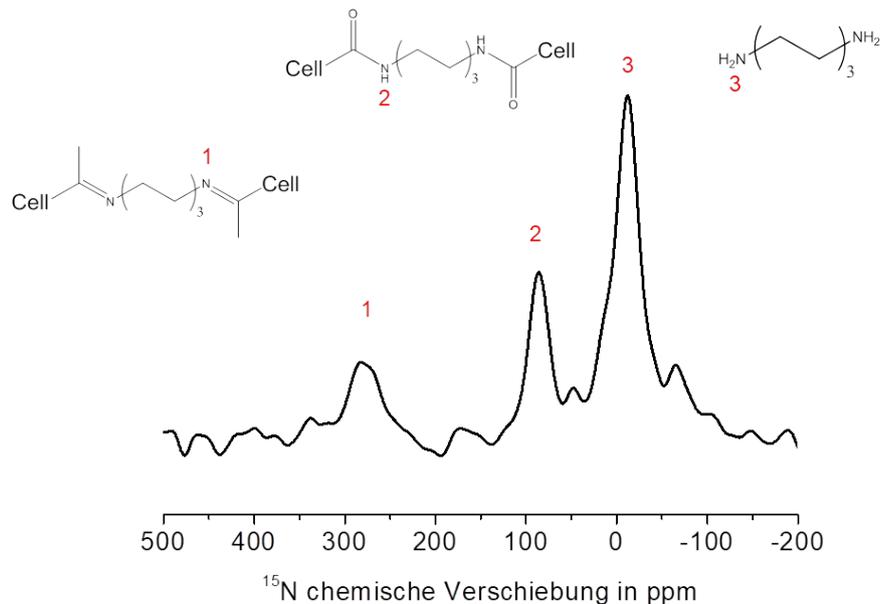


Abbildung 4.9: a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS DNP Spektrum von oxidiertem HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol DMSO- $d_6$ /D $_2$ O/H $_2$ O (6:3:1 w/w/w) Matrix. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

#### 4.2.4 Fazit

In diesem Kapitel wurde mit DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR die Oxidation von HPC nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde mit  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS DNP NMR die Vernetzung der oxidierten HPC untersucht. Über die  $^{15}\text{N}$  chemischen Verschiebungen wurde nachgewiesen, dass die Verknüpfung durch den HMDA Linker über Imin- und Amidbindungen erfolgt.

---

## 5 Farbstofffunktionalisierung von Biopolymeren

---

### 5.1 Einleitung

Ähnlich zu papierbasierten Materialien ist Chitosan und dessen Derivate ein Material, welches in einer Vielzahl von biokompatiblen funktionellen Materialien mit möglichen Anwendungen in verschiedenen Feldern, wie beispielsweise der Lebensmittelindustrie, Pharmazie oder Diagnostik etabliert ist.[121–128] Speziellere Anwendungen finden sie als Trägermaterial in den Bereichen der heterogenen Katalyse[7, 8], der Sensorik[1, 2] und in elektronischen oder optischen Anlagen,[9, 10] wobei sie kürzlich in Laserexperimenten verwendet wurden.[10, 11] Um Chitosan und Papier für diese Anwendungen zugänglich zu machen, müssen diese zunächst aus natürlichen und erneuerbaren Ressourcen gewonnen werden. Für Papiere sind Cellulosefasern aus Pflanzen oftmals der Ausgangsrohstoff.[129] Chitosan wird meistens durch Deacetylierung von Chitin aus Schalentieren oder Pilzen gewonnen.[130] Im nächsten Schritt können die Trägermaterialien modifiziert werden, wie beispielsweise durch das Einbringen von Farbstoffmolekülen, um eine Funktionalität zu generieren. Eine Möglichkeit stellt hier die kovalente Anbindung von Molekülen dar, wie sie von Song et al.[131] für das Fluorophor 1,8-Naphthalimid auf nanokristalliner Cellulose und Zhao et al. [27] für die Anbindung von Rhodamin B auf nanokristalliner Cellulose gezeigt wurde. Eine andere Möglichkeit bildet die Adsorption von Molekülen auf Cellulose/Papier mit Anwendung in der Gassensorik[3–5] oder auf Chitosan um Farbstoffmoleküle aus Abwässern zu adsorbieren.[132]

Kürzlich wurde gezeigt, dass konventionelles Papier, welches mit einem Fluoreszenzaufheller, wie beispielsweise Calcofluor White, behandelt wurde in Amplified Spontaneous Emission (ASE) Experimenten genutzt werden kann.[11] Hier sind eine Reihe von Fragen bisher nur unzureichend beantwortet: (i) Wie interagiert das Farbstoffmolekül mit dem Trägermaterial? (ii) Gibt es Unterschiede zwischen verschiedenen Trägermaterialien wie beispielsweise Papier und Chitosan? (iii) Verändert die Adsorption des Farbstoffmoleküls auf dem Trägermaterial dessen Struktur? (iv) Verändert die Verwendung verschiedener Trägermaterialien die Eigenschaften in ASE Experimenten?

Um diese Fragen zu beantworten muss eine detaillierte strukturelle Analyse auf Molekülebene durchgeführt werden. Dies benötigt eine entsprechende Analysetechnik, die den Zugriff auf Informationen über lokale Strukturen in ungeordneten Materialien zulässt.

Eine Möglichkeit liefert die Festkörper NMR[21], deren Einsatz jedoch durch ihre geringe intrinsische Sensitivität begrenzt ist. Dadurch ist es schwierig Biopolymere mit kleinen Oberflächen, geringen Mengen an Oberflächenmolekülen oder Kerne mit einem kleinen gyromagnetischen Faktor wie  $^{15}\text{N}$  zu detektieren.[133–135] Um dieses Problem zu umgehen ist es notwendig die Sensitivität zu erhöhen, was beispielsweise durch die Verwendung der DNP in Kombination mit Festkörper NMR gelingt.[57, 58, 114–116, 136] Diese Technologie verwendet wie in Kapitel 3.3 bereits beschrieben die Polarisierung der Elektronen, welche um drei Größenordnungen höher ist als die der Kerne, und transferiert diese auf die Kerne. Dadurch wird die Sensitivität der Festkörper NMR signifikant erhöht, was für verschiedene Cellulose basierte Materialien bereits gezeigt wurde.[26–28, 117, 137–139]

Mit Hilfe dieser Technik soll im Folgenden die strukturelle Organisation und die Interaktionen des Farbstoffmoleküls Calcofluor White mit der Oberfläche des Trägermaterials sowie der Einfluss der Lösemittel auf die Struktur des Trägermaterials aufgezeigt werden. Als Modellsysteme wurden kalligraphisches Papier und Chitosan gewählt, welche mit Calcofluor White imprägniert wurden.

Das Kapitel ist wie folgt organisiert. Nach der Einleitung werden im Methodenteil die experimentellen Details zusammengefasst. Im Anschluss werden die Resultate und die Diskussion vorgestellt, wobei zunächst die Charakterisierung der Modellsysteme mittels DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  und  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS NMR erfolgt. Danach werden diese diskutiert und in den Kontext der strukturellen Veränderung des Trägermaterials gestellt. Zuletzt werden die Ergebnisse der ASE Messungen der beiden Modellsysteme diskutiert und mit den Ergebnissen der NMR Untersuchungen in Kontext gesetzt.

## 5.2 Methoden

### 5.2.1 Allgemein

Calcofluor White (Fluoreszenzaufheller 28, Probe 1) wurde von Sigma-Aldrich bezogen. Das Papiermaterial (kalligraphisches Papier, Probe 2) wurde von Wenzhou Halili Industry & Trade Co. (China) bezogen. Das Chitosan (Probe 4) wurde aus niedermolekularem Chitosan (Probe 6) präpariert, welches von Sigma-Aldrich bezogen wurde. AMUPol[54] wurde von Cortecnet (Frankreich) gekauft. Glycerol- $d_8$  und  $\text{D}_2\text{O}$  wurden von Sigma-Aldrich bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Eine Liste aller Probenbezeichnungen ist in Tabelle 5.1 aufgeführt. Die detaillierte Probenpräparation ist im Folgenden aufgelistet.

Tabelle 5.1: Liste der Probenbezeichnung und Kurzbeschreibung

Probenbezeichnung	Kurzbeschreibung	Abbildung
Probe 1	Calcofluor White	5.7, 6.26
Probe 1a	Calcofluor White + DNP Matrix	5.2, 5.3, 5.4, 5.6, 6.25
Probe 2	Kalligraphisches Papier	
Probe 2a	Kalligraphisches Papier + DNP Matrix	5.2
Probe 3	Kalligraphisches Papier mit Calcofluor White	5.7
Probe 3a	Kalligraphisches Papier mit Calcofluor White + DNP Matrix	5.1, 5.2, 5.3, 6.25
Probe 4	Chitosan	5.5
Probe 4a	Chitosan + DNP Matrix	5.4, 6.28
Probe 4b	Chitosan + $\text{H}_2\text{O}$	5.5
Probe 4c	Chitosan + Glycerol- $d_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$	5.5
Probe 5	Chitosan mit Calcofluor White	5.7, 5.5
Probe 5a	Chitosan mit Calcofluor White + DNP Matrix	5.4, 5.6, 6.27, 6.28
Probe 5b	Chitosan mit Calcofluor White + $\text{H}_2\text{O}$	5.5

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle 5.1 – Fortsetzung aus der vorherigen Seite

Probenbezeichnung	Kurzbeschreibung	Abbildung
Probe 5c	Chitosan mit Calcofluor White + Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O	5.5
Probe 6	Niedermolekulares Chitosan mit Calcofluor White	6.29
Probe 6b	Niedermolekulares Chitosan mit Calcofluor White + H <sub>2</sub> O	6.29
Probe 6c	Niedermolekulares Chitosan mit Calcofluor White + Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O	6.29

### 5.2.2 Allgemeine Probenpräparation

Die allgemeine Probenpräparation wurde von Dr. Marilia Horn und Dr. Nicolai Hoinka durchgeführt.

Kalligraphisches Papier + Calcofluor White (Probe 3): Im ersten Schritt wurde eine 1 mg/mL (ca. 1 mM) Lösung von Calcofluor White (Probe 1) ( $M = 960,95 \text{ g/mol}$ ) in demineralisiertem Wasser hergestellt. Das Papiermaterial (Probe 2) wurde dann durch Zutropfen der Lösung mit einer Pipette vollständig benetzt. Das Material wurde bei Raumtemperatur getrocknet. Der Vorgang wurde wiederholt um Probe 3 zu erhalten. Chitosan (Probe 4): Zunächst wurde der Acetylierungsgrad des niedermolekularen Chitosans mittels <sup>1</sup>H NMR analog zu der Methode von Lavertu et al. [140] bestimmt. Das Molekulargewicht (120 kDa) wurde durch das Kapillarviskosimeterverfahren [141] mit Flusszeitmessungen an einem Ubbelohde Viskosimeter bestimmt. Ein Chitosangel 1% (w/w) wurde durch Auflösen des Polysaccharides in Essigsäure-Wasser-Lösung 1% und anschließendem Rühren bei Raumtemperatur für 24 h hergestellt. Im Anschluss wurde diese Lösung in Flüssigstickstoff eingefroren und gefriergetrocknet.

Chitosan + Calcofluor White (Probe 5): Das Chitosan wurde wie oben beschrieben behandelt. Danach wurde eine Calcofluor White Lösung von 1 mg/mL (ca. 1 mM) in demineralisiertem Wasser verwendet um die Probe zu benetzen.

### 5.2.3 Probenpräparation für DNP NMR Experimente

Calcofluor White (Probe 1a): Als Referenz wurde eine Probe des Calcofluor White Farbstoffs (Probe 1) für DNP NMR Messungen präpariert. Dabei wurden 28,1 mg Substanz mit 14 µL einer 15 mM AMUPol[54] Lösung in Glycerol-d<sub>8</sub>/D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) versetzt. Die feuchte Probe wurde in einen 3,2 mm Saphirrotor gepackt, welcher anschließend mit einem Teflonplug und einer ZrO<sub>2</sub> Kappe verschlossen wurde. Kalligraphisches Papier (Probe 2a): In ähnlicher Weise wurden 14 mg des kalligraphischen Papiers (Probe 2) mit 14 µL der 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol-d<sub>8</sub>/D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) imprägniert um die Probe für DNP NMR Messungen zu erhalten.

Kalligraphisches Papier + Calcofluor White (Probe 3a): Mit dem mit Farbstoff imprägnierten kalligraphischen Papier (Probe 3) wurde für DNP NMR Messungen eine Probe analog zu Probe 2 präpariert. Dabei wurden 14 mg der Probe 3 mit 14 µL der 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol-d<sub>8</sub>/D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) imprägniert.

Chitosan (Probe 4a): Analog zu Probe 1 wurde diese Probe präpariert. Dabei wurden 17 mg der Probe 4 mit 17 µL der 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol-d<sub>8</sub>/D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) imprägniert.

---

Chitosan + Calcofluor White (Probe 5a): Diese Präparation wurde analog zu Probe 4 vorgenommen. In diesem Fall wurden 15 mg der Probe 5 mit 15  $\mu$ L der 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $d_8$ /D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) imprägniert.

## 5.2.4 DNP NMR Experimente

Die DNP verstärkten NMR Spektren von Probe 1a, 2a und 3a wurden von Dr. Timmy Schäfer aufgenommen. Die DNP verstärkten NMR Spektren von Probe 4a und 5a wurden von Dr. Fabien Aussenac aufgenommen.

Festkörper DNP NMR Spektren der Proben 1a, 2a und 3a wurden in Darmstadt an einem Bruker Avance III 400 DNP Spektrometer mit einer Frequenz von 400,02 MHz für <sup>1</sup>H, 100,59 MHz für <sup>13</sup>C und 40,54 MHz für <sup>15</sup>N aufgenommen. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf und einem 9,7 T Bruker Gyrotronsystem ausgestattet, welches MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

Um die optimale Wiederholzeit für die Kreuzpolarisationsexperimente zu bestimmen wurden <sup>1</sup>H Saturation Recovery Experimente (siehe Abbildung 3.2) mit MW (MW an) für alle Proben durchgeführt. Hierfür wurde eine Sättigungspulsfolge von 20  $\pi/2$  Pulsen mit einer Länge von jeweils 2,3  $\mu$ s eingesetzt und die Aufbauzeit vor dem  $\pi/2$  Detektionspuls variiert. Die resultierenden Datenpunkte wurden mit einer exponentiellen Funktion gefittet um die Aufbauzeit  $T_B$  zu berechnen.

<sup>1</sup>H $\rightarrow$ <sup>13</sup>C CP MAS Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 bzw. 10 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem <sup>1</sup>H Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 40 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 512 Scans gemessen und auf TMS (0 ppm) durch die Verwendung des Silikonplugs als externen Standard (0 ppm) referenziert.

<sup>1</sup>H $\rightarrow$ <sup>15</sup>N CP MAS Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 3,5 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem <sup>1</sup>H Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 25 ms wurde eine TPPM Entkopplung[95] angewendet. Das Spektrum von Probe 1a wurde mit 1536 und das von Probe 3a wurde mit 20480 Scans aufgenommen. Alle Spektren wurden auf flüssiges NH<sub>3</sub> (0 ppm) durch Verwenden des externen Standards NH<sub>4</sub>Cl (39,3 ppm) nach [142] referenziert.

Die Festkörper DNP Spektren der Proben 4a und 5a wurden in Wissembourg (Frankreich) an einem Bruker Avance NEO Spektrometer mit einem Ascend 400 DNP Magnet mit einer Frequenz von 400,22 MHz für <sup>1</sup>H, 100,64 MHz für <sup>13</sup>C und 40,55 MHz für <sup>15</sup>N aufgenommen. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf und einem 4,8 T Bruker Gyrotronsystem ausgestattet, welches eine MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

Um die optimale Wiederholzeit für die Kreuzpolarisationsexperimente zu bestimmen, wurden <sup>1</sup>H Saturation Recovery Experimente mit MW An für alle Proben mit einer Sättigungspulsfolge von 50  $\pi/2$  Pulsen mit einer Länge von jeweils 2,6  $\mu$ s durchgeführt. Die resultierenden Datenpunkte wurden mit einer exponentiellen Funktion gefittet um die Aufbauzeit  $T_B$  zu erhalten.

<sup>1</sup>H $\rightarrow$ <sup>13</sup>C CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 bzw. 10 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem <sup>1</sup>H Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 34 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 512 Scans gemessen und auf TMS (0 ppm) durch die Verwendung des Silikonplugs als externen Standard (0 ppm) referenziert.

<sup>1</sup>H $\rightarrow$ <sup>15</sup>N CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 3,5 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem <sup>1</sup>H Kanal verwendet. Die Wiederholzeit

---

wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 34 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] angewendet. Die Spektren von Probe **4a** und **5a** wurden jeweils mit 16384 Scans aufgenommen. Alle Spektren wurden auf flüssiges  $\text{NH}_3$  (0 ppm) durch Verwenden des externen Standards Glycin (30 ppm) nach [142] referenziert.

Um Verstärkungsfaktoren der DNP verstärkten NMR Spektren zu berechnen wurde die gleiche Probe mit und ohne MW gemessen. Indem die Peakmaxima auf den gleichen Wert skaliert wurden konnte ein Verstärkungsfaktor bestimmt werden. Der Fehler wurde abgeschätzt, indem der prozentuale Fehler des Rauschlevels für beide Spektren aufsummiert wurde.

### 5.2.5 Probenpräparation für ASE Experimente

Alle ASE Experimente und die Probenpräparation dafür wurden von Dr. Nicolai Hoinka durchgeführt. Die experimentellen Details sind in der Veröffentlichung (Publikationsliste [1]) beschrieben.

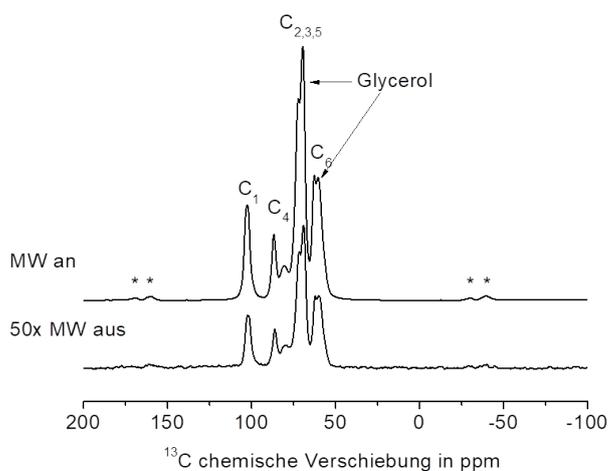
## 5.3 Ergebnisse und Diskussion

Um die Interaktionen des Calcofluor White Farbstoffs mit den Trägermaterialien zu untersuchen wurden drei Modellsysteme präpariert. Zum einen sind Referenzsysteme, in diesem Fall der reine Farbstoff sowie das reine Trägermaterial notwendig, zum anderen die funktionalisierten Materialien, wobei sowohl Papier als auch Chitosan als Trägermaterialien verwendet wurden.

### 5.3.1 Kalligraphisches Papier

Als erstes Modellsystem wurde das kalligraphische Papier (Probe **3**) untersucht, welches mit Calcofluor White imprägniert wurde. Dieses System wurde bereits vorher erfolgreich in ASE Experimenten verwendet.[11] Um die Interaktionen des Farbstoffmoleküls mit dem Trägermaterial besser untersuchen zu können wurden drei Proben, nämlich reines Calcofluor White (Probe **1a**), reines kalligraphisches Papier (Probe **2a**) als Referenz und das kalligraphische Papier mit Calcofluor White (Probe **3a**) präpariert und mittels DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  bzw.  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS NMR untersucht.

Zunächst wurden die Verstärkungsfaktoren für die  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR Experimente von Probe **3a** analysiert. Dabei liegen die Verstärkungsfaktoren im Rahmen der Fehler für diese Probe bei ca. 123 für alle Peaks. Dies spiegelt eine gleichmäßige Verteilung der Polarisation über die gesamte Probe wider. Diese Beobachtung bestätigt, dass die Probe gleichmäßig mit der DNP Matrix getränkt wurde und die  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  Spindiffusion über die Probe homogen ist.



Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm	Zuordnung
102.7	C <sub>1</sub>
86.7	C <sub>4</sub> (kristallin)
80.6	C <sub>4</sub> (amorph)
77.0-65.5	Glycerol + C <sub>2,3,5</sub>
65.5-54.0	Glycerol + C <sub>6</sub>

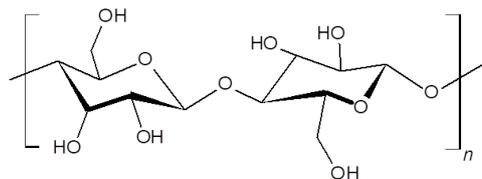


Abbildung 5.1:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR Spektren von kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe **3a**) aufgenommen mit und ohne MW, und Tabelle mit Zuordnung der Signale. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

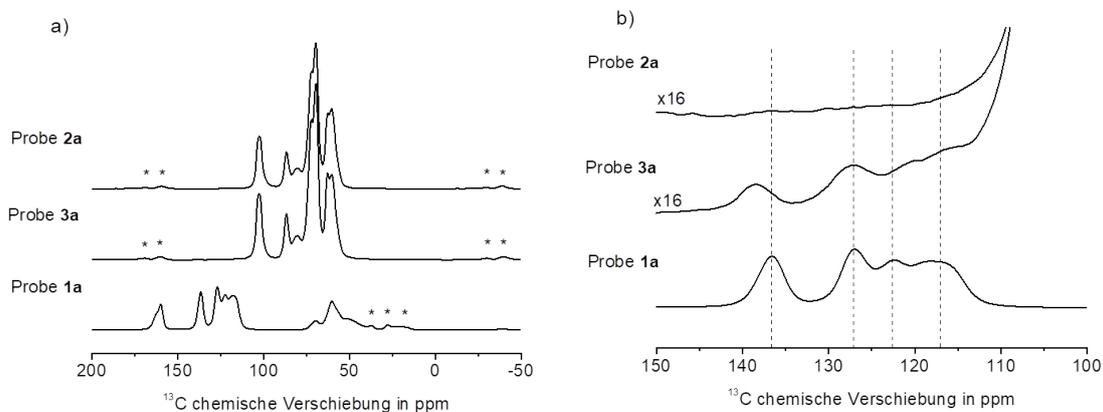


Abbildung 5.2: a) DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe **1a**), kalligraphischem Papier (Probe **2a**) und kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe **3a**). b) Vergrößerung des Bereiches von 100 bis 150 ppm. Der Skalierungsfaktor 16 ist notwendig um die Signale des Calcofluor White sichtbar zu machen. Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Die gestrichelten Linien sind als Orientierungshilfe eingezeichnet. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

Um die beobachteten Signale den verschiedenen Spezies in der Probe zuordnen zu können, wurden die Spektren der funktionalisierten Materialien mit denen der Referenzsubstanzen verglichen (siehe Abbildung 5.2). Somit lassen sich die Signale bei 165 ppm den Kohlenstoffatomen im 1,3,5-Triazinring, die Signale bei 50 ppm und 60 ppm den  $-CH_2$  Gruppen und die Signale im Bereich von 115-145 ppm dem aromatischen Ringsystem des Farbstoffmoleküls zuordnen. Zusätzlich werden die Signale des Papiermaterials sowie des Glycerols beobachtet, welche in Tabelle 5.1 zugeordnet werden. Im Bereich von 100-150 ppm sind die Peaks des Farbstoffmoleküls klar zu erkennen. Sie sind bei 138,5, 127,5, 120,5 und 116 ppm zu finden. Durch den geringeren Anteil der Farbstoffmoleküle im Vergleich zum Papier sind die Peakintensitäten wie erwartet deutlich geringer.

Der Vergleich zwischen den Signalen des reinen Farbstoffmoleküls (Probe **1a**) und des Farbstoffmoleküls auf Papier (Probe **3a**) zeigt signifikante Unterschiede. Dabei ist der Peak des Farbstoffmoleküls auf Papier (Probe **3a**) bei 138,5 ppm um ca. 2 ppm Tieffeld verschoben im Vergleich zum reinen Farbstoffmolekül (136,5 ppm). Der Peak bei 127,5 ppm ist in beiden Proben zu finden. Die Peaks bei 122,5 und 118 ppm des Farbstoffmoleküls auf Papier (Probe **3a**) sind um 2 ppm Hochfeld verschoben, verglichen mit den Peaks des reinen Farbstoffmoleküls. Diese Verschiebungen deuten auf eine Interaktion der Farbstoffmoleküle mit dem Trägermaterial des Papiers hin. Mögliche weitere Peaks des Farbstoffmoleküls lassen sich aufgrund der Überlagerung mit Signalen der Cellulose oder des Glycerols oder deren Rotationsseitenbanden nicht genauer analysieren.

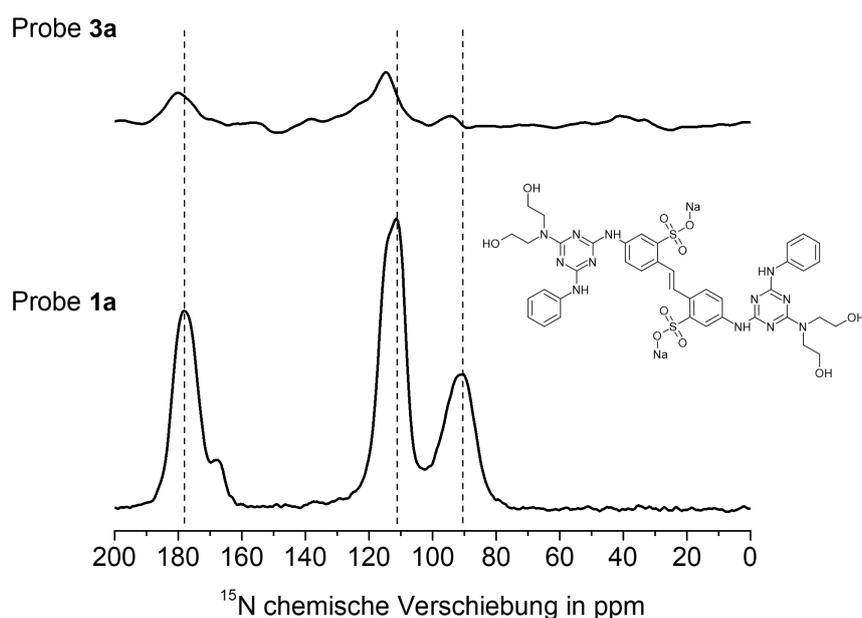


Abbildung 5.3: Vergleich der DNP verstärkten  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe **1a**) und kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe **3a**). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $d_8$ /D $_2$ O/H $_2$ O (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

Um die Interaktionen genauer zu beleuchten wurden DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Spektren aufgenommen (siehe Abbildung 5.3). Dabei zeigt das Farbstoffmolekül (Probe **1a**) drei Signale, bei 178, 112,5

---

und 91,5 ppm. Das Signal bei 178 ppm zeigt zusätzlich noch eine Schulter bei etwa 167,5 ppm. Diese beiden Signale können den Stickstoffatomen im 1,3,5-Triazinring zugeordnet werden. Die Signale bei 112,5 und 91,5 ppm können den sekundären und tertiären Aminen zugeordnet werden. Im Vergleich dazu sind bei der Probe des mit Farbstoff imprägnierten Papiers (Probe **3a**) Signale bei 179,5 und 114,5 ppm zu finden. Zusätzlich ist ein schwächeres Signal, welches im Rauschlevel liegt, bei 94,5 ppm zu sehen. Die beobachteten Peaks zeigen im Vergleich zum reinen Calcofluor White eine signifikante Veränderung in ihrer Intensität sowie in ihrer chemischen Verschiebung. Für die Stickstoffatome im 1,3,5-Triazinring ist die Verschiebung geringer als 2 ppm während die Signale der Amingruppe signifikant um 3-4 ppm verschoben sind. Dies deutet darauf hin, dass letztere Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden, welche zu dieser Verschiebung führen.[33, 143]

### 5.3.2 Chitosan Trägermaterial

In einem weiteren Versuch wurde Calcofluor White auf Chitosan aufgetragen und für ASE Experimente verwendet. Auch hier wurden mittels DNP verstärkter  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  bzw.  $^1\text{H}\rightarrow^{15}\text{N}$  CP MAS NMR das reine Chitosan (Probe **4a**) und das mit Calcofluor White imprägnierte Chitosan (Probe **5a**) untersucht. Für Letzteres wurde in den  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS NMR Spektren eine Verstärkung von bis zu  $\epsilon=71$  gefunden, was etwas geringer als die Verstärkung der reinen Chitosan Probe **4a** von  $\epsilon=83$  ist. Für beide Proben wurde, wie auch bereits bei den papierbasierten Materialien, eine im Rahmen des Fehlers gleichmäßige Verstärkung aller Peaks gefunden was auf eine homogene Verteilung der Polarisation hindeutet.

In den  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren der Proben **4a** und **5a** (siehe Abbildung 5.4) sind deutliche Signale bei 60 und 72 ppm zu sehen, welche dem Glycerol in der DNP Matrix zugeordnet werden können. Diese beiden Signale zeigen jeweils eine Schulter bei 55 bzw. 80 ppm. Diese lassen sich den Kohlenstoffatomen  $\text{C}_2$  und  $\text{C}_4$  der Glucosamin und N-Acetylglucosamin Einheit zuordnen.[144, 145] Außerdem sind Signale bei 21,5, 172,5 und 179,5 ppm zu finden. Der Peak bei 21,5 ppm ist in einer spektralen Region, welche typisch für Methylgruppen ist. Die Peaks bei 172,5 und 179,5 ppm lassen sich Carbonylgruppen zuordnen, welche eine unterschiedliche chemische Umgebung haben und von den N-Acetylglucosamin Einheiten stammen. Diese sind in der Probe vorhanden, da das verwendete kommerzielle Chitosan einen Acetylierungsgrad von etwa 15% aufweist. Wie Kameda et al. [146] bereits gezeigt hat, stammen diese Signale vermutlich nicht von  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$  Kopplungen oder kristallinen und amorphen Bereichen. Wahrscheinlicher ist, dass sie durch verschiedene Wasserstoffbrückenbindungsnetzwerke hervorgerufen werden, welche einen starken Einfluss auf chemische Verschiebungen haben. Durch eine Dekonvolution der beiden Peaks lässt sich eine Veränderung des Flächenverhältnisses des Peaks bei 179,5 ppm zum Peak bei 172,5 ppm berechnen. Für Probe **4a** liegt dieses Verhältnis bei 65% und reduziert sich leicht zu 60% für Probe **5a**. Dies zeigt, dass sich das Wasserstoffbrückennetzwerk an der Carbonylgruppe nicht signifikant verändert. Hierbei muss beachtet werden, dass diese Analyse der Spektren darauf basiert, dass die CP Effizienz für Probe **4a** und **5a** gleich ist. Dies sollte jedoch in erster Näherung gegeben sein, da es sich um Proben mit sehr ähnlicher Beschaffenheit handelt. Des Weiteren kann durch den Vergleich mit den MW Aus Spektren (siehe Anhang Abbildung 6.28) sichergestellt werden, dass es sich nicht um einen Effekt handelt, der durch die DNP Signalverstärkung verursacht wird.

Die Signale bei 101 und 96 ppm können dem  $\text{C}_1$  der N-Acetylglucosamin und Glucosamin Einheit mit verschiedenen Wasserstoffbrückenbindungen zugeordnet werden.[147] Dabei verringert sich das Verhältnis der Flächen des Peaks bei 96 ppm zum Peak bei 101 ppm von 50% (Probe **4a**) zu 25% (Probe **5a**) signifikant, wenn Calcofluor White zum Chitosan gegeben wird. Es ist unwahrscheinlich, dass diese Veränderung durch eine TEMPO vermittelte Oxidation zustande kommt[148], was durch die TEMPO ähnlichen Radikale in

der DNP Matrix theoretisch möglich aber unwahrscheinlich ist. Es ist denkbar, dass diese Veränderung durch die Imprägnierung/das Befeuchten der Probe mit der wässrigen DNP Matrix verursacht wurde.

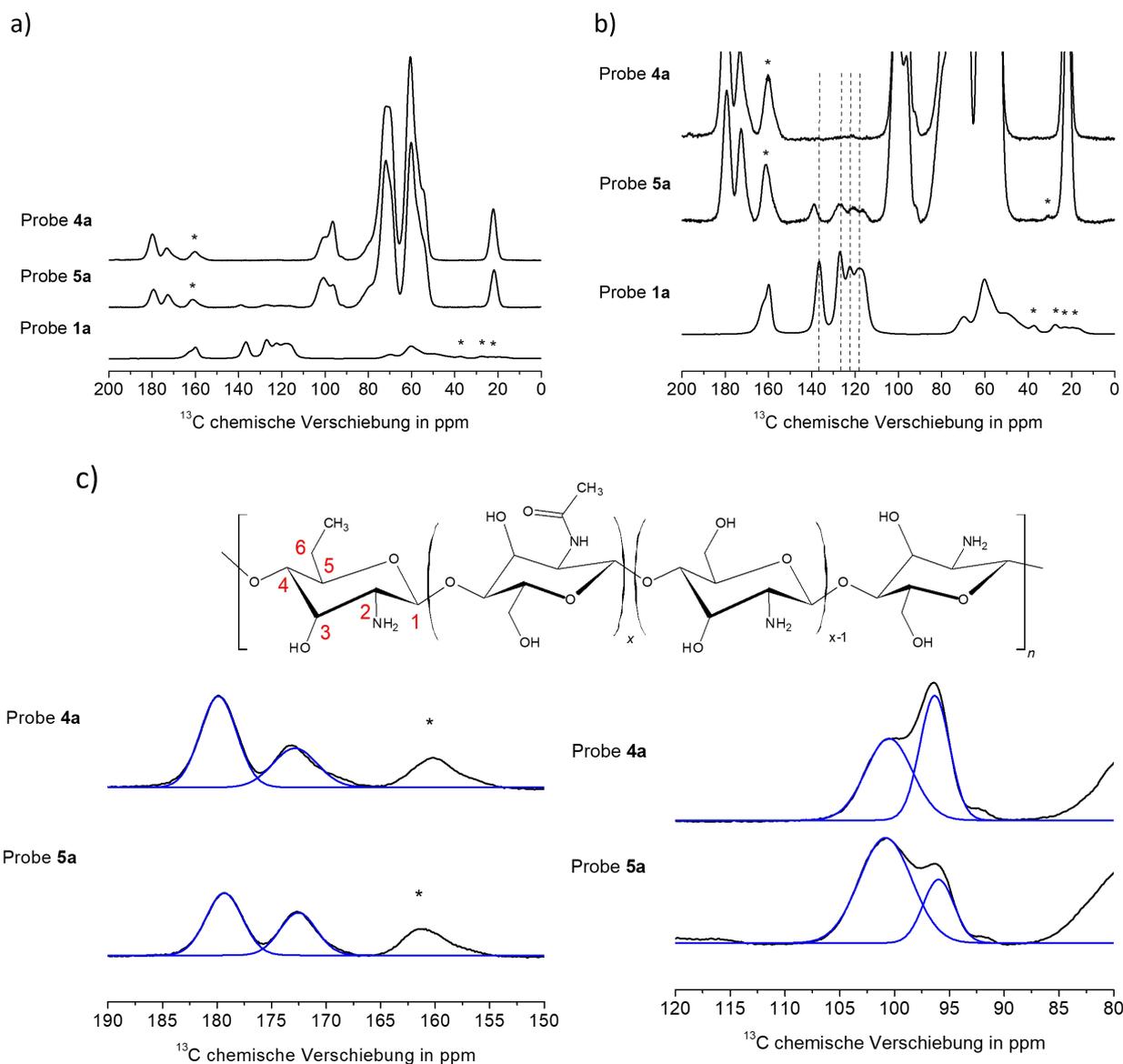


Abbildung 5.4: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe 1a), Chitosan (Probe 4a) und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe 5a). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Zum Vergleich ist ein Spektrum, welches mit 8 kHz Rotationsgeschwindigkeit gemessen wurde in Anhang Abbildung 6.27 zu sehen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

Um den letzteren Effekt genauer analysieren zu können, wurden die Proben 4 und 5 zusätzlich als trockene Materialien mit klassischer Festkörper NMR bei Raumtemperatur untersucht. Zusätzlich wurden die DNP

Matrix bzw. Wasser auf die trockenen Proben **4** und **5** gegeben (Probe **4b**, **4c**, **5b**, **5c**) und ebenfalls mit klassischer Festkörper NMR untersucht (siehe Abbildung 5.5). Die Spektren von Chitosan (Probe **4**) und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe **5**) zeigen ein breites Signal, welches sich aus zwei Signalen (102 und 99 ppm) zusammensetzt, die der N-Acetylglucosamin- und Glucosamineinheit bei verschiedenen Wasserstoffbrückennetzwerken zugeordnet werden können. Zusätzlich sind in der Carbonylregion drei Peaks bei 179,5, 176 und 173,5 ppm für Probe **4** zu sehen, wohingegen für Probe **5** lediglich zwei Peaks bei 179,5 und 173,5 ppm zu sehen sind. Wird nun die DNP Matrix zu den Proben **4** und **5** hinzugegeben (Probe **4c** und **5c**), verändern sich die relativen Intensitäten der Peaks zueinander. Die Fläche des Peaks bei 173,5 ppm wird dabei relativ zur Fläche des Peaks bei 179,5 ppm größer. Dieser Effekt ist sogar noch deutlicher zu sehen, wenn Wasser zu den Proben **4** und **5** gegeben wird (Probe **4b** und **5b**). Hier wird nur noch ein Peak bei 173,5 ppm beobachtet.

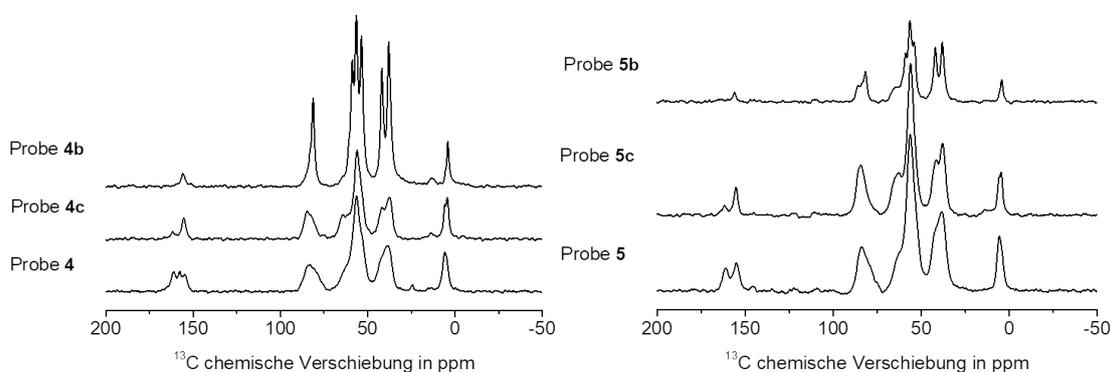


Abbildung 5.5: Links:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von reinem Chitosan (Probe **4**) imprägniert mit Wasser (Probe **4b**) und imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) (Probe **4c**). Rechts:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe **5**), zusätzlich imprägniert mit Wasser (Probe **5b**) und zusätzlich imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) (Probe **5c**). Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei Raumtemperatur und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

Eine Erklärung dafür findet sich in der theoretischen Arbeit von Kameda et al.[149], bei der eine Verschiebung der C=O Signale zu niedrigerem Feld bei erhöhter Stärke der Wasserstoffbrücken vorhergesagt wurde. Dementsprechend müssten für die Proben **4b** und **5b** die Wasserstoffbrücken schwächer geworden sein, da das Tieffeldsignal der Carbonylgruppe verschwindet. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass durch die Zugabe von Wasser das Chitosan quillt und durch die vergrößerten Abstände zwischen den Molekülketten die Wasserstoffbrücken schwächer werden. Die Zugabe der wässrigen DNP Matrix ist in dieser Erklärung ein Zwischenschritt, in dem das Chitosan weniger stark aufquillt. Ein ähnliches Verhalten findet sich für das  $\text{C}_1$  Signal des Chitosan. Für die trockenen Proben **4** und **5** sind zwei Peaks bei 102 und 99 ppm zu sehen. Wird nun die wässrige DNP Matrix zu der Probe gegeben (Probe **4c** und **5c**) ändert sich das Verhältnis der Peaks zueinander nur minimal. Wird jedoch stattdessen Wasser zu der trockenen Probe gegeben sind die Effekte deutlicher. Die Fläche des Signals bei 99 ppm wird dabei im Vergleich zur Fläche des Peaks bei 102 ppm größer, was in Übereinstimmung mit dem Verhalten der Peaks in der Carbonylregion steht.

Dieser Effekt konnte nicht für reines Chitin, wie es von Sigma-Aldrich bezogen wurde (Probe **6**), festgestellt

werden (siehe Anhang Abbildung 6.29). In der Carbonylregion ist lediglich ein Peak bei 174 ppm zu sehen und auch der Peak bei 105 ppm zeigt keine Aufspaltung. Das gilt ebenfalls für das Chitin, welches mit der DNP Matrix (Probe **6b**) oder Wasser (Probe **6c**) benetzt wurde. Eine Erklärung hierfür sind starke elektrostatische Wechselwirkungen im Chitin, welche das Quellen unter Wasser verhindern könnten. Diese Interaktionen sind als Weichmachereffekte für Chitosan bekannt.[150–152] Für das Chitosan (Probe **4**), welches unter sauren Bedingungen präpariert wurde, scheint dieser Effekt nicht vorhanden zu sein. Somit kann das Material bei einer Behandlung mit Lösemitteln quellen.

Im Vergleich dazu ist für die Struktur der papierbasierten Proben **2** und **3** keine signifikante Veränderung des  $C_1$  gefunden worden, wenn es mit verschiedenen DNP Matrizen benetzt wird (siehe Anhang Abbildung 6.30).

Neben den bereits beschriebenen Signalen des Trägermaterials bei Probe **4a** und **5a** sind weitere Signale mit geringer Intensität bei Probe **5a** zu sehen. Diese liegen bei 139, 127, 121 und 116,5 ppm und können wie für Probe **1a** und **3a** bereits beschrieben dem Farbstoffmolekül zugeordnet werden. Hierbei ist eine Verschiebung der Peaks in der mit Calcofluor White imprägnierten Chitosan Probe **5a** im Vergleich zum reinen Calcofluor White (Probe **1a**) zu erkennen. Diese Verschiebungen sind ähnlich zu denen, die für das kalligraphische Papier als Trägermaterial gefunden wurden.

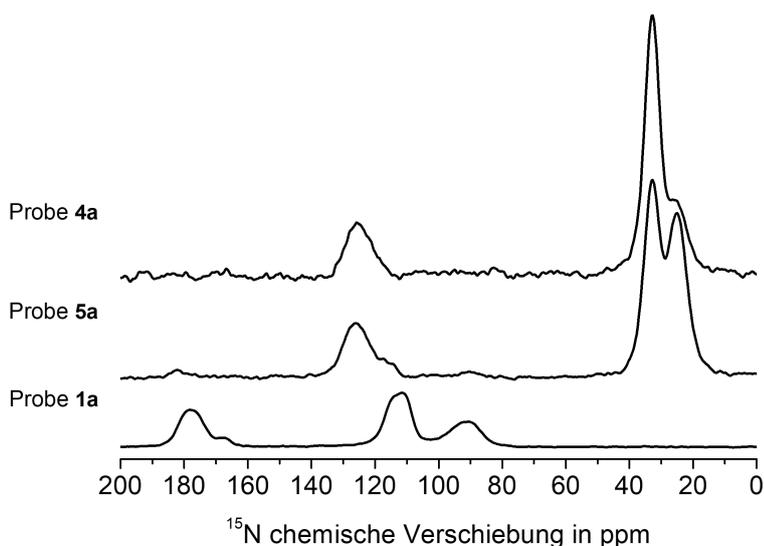


Abbildung 5.6: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe **1a**), Chitosan (Probe **4a**) und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe **5a**). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $d_8$ /D $_2$ O/H $_2$ O (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

Da Chitosan im Vergleich zu Cellulose zusätzliche  $-\text{NH}_2$  Gruppen besitzt, ist es interessant  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Spektren aufzunehmen. In Abbildung 5.6 ist der Vergleich zwischen Probe **1a**, **4a** und **5a** dargestellt. Für die Chitosan Probe (Probe **4a**) sind drei Signale zu sehen. Das Signal bei 125,5 ppm kann den N-Acetylglucosamin Einheiten zugeordnet werden. Die Signale bei 33 und 25 ppm weisen auf Aminogruppen

hin, welche der Glucosamin Einheit zugeordnet werden können.[153] Die Beobachtung der beiden Signale wird dabei vermutlich von der Protonierung des Amins verursacht. Basierend auf den Arbeiten [154, 155] kann das Signal bei 33 ppm einer  $-NH_3^+$  und das Signal bei 25 ppm einer  $-NH_2$  Gruppe zugeordnet werden. Der Vergleich der  $^1H \rightarrow ^{15}N$  CP MAS Spektren von Probe **4a** und **5a** zeigt die deutliche Veränderung der relativen Intensitäten der Peaks bei 33 und 25 ppm. Dabei verringert sich der Peak bei 33 ppm im Verhältnis zum Peak bei 25 ppm für Probe **5a** verglichen mit Probe **4a**. Außerdem sind Signale bei 180,5, 116,5 und 90,5 ppm im Spektrum von Probe **5a** zu sehen. Im Vergleich zum reinen Calcofluor White (Probe **1a**), bei dem die Signale bei 178, 112,5 und 91,5 ppm zu finden sind, ist eine leichte Verschiebung zu beobachten. Diese weist auf Interaktionen des Calcofluor Whites mit dem Chitosan Trägermaterial über Wasserstoffbrückenbindungen hin.

### 5.3.3 Anwendung der imprägnierten Trägermaterialien

Die untersuchten Proben **3** und **5**, also das kalligraphische Papier und das Chitosan jeweils imprägniert mit Calcofluor White, wurden in ASE Experimente angewendet (siehe Abbildung 5.7). Die Messungen wurden von Dr. Nikolai Hoinka durchgeführt. Dabei wurde für beide Materialien eine scharfe Emissionslinie mit einer FWHM Breite von 3 nm gefunden. Das zeigt, dass diese Materialien für ASE Experimente geeignet sind. Deutlich interessanter ist jedoch, dass das kalligraphische Papier mit Calcofluor White (Probe **3**) eine Emissionswellenlänge von 440 nm hat, während das Chitosan mit Calcofluor White (Probe **5**) eine Wellenlänge von 448 nm emittiert obwohl beide Proben denselben Farbstoff enthalten.

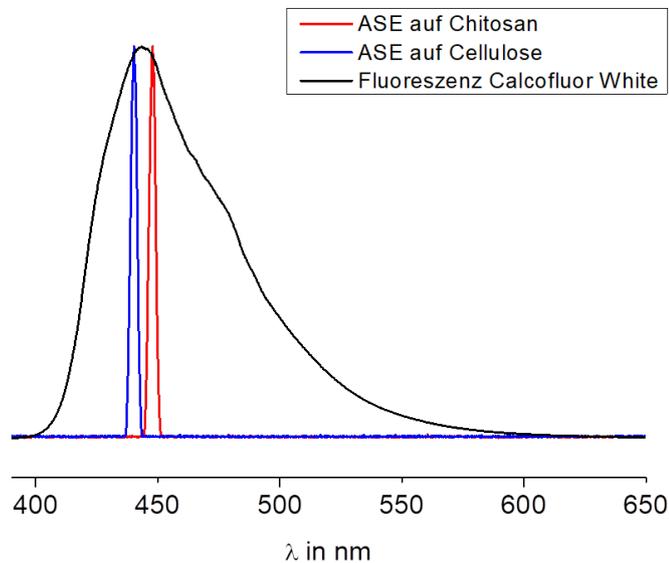


Abbildung 5.7: ASE Experimente an kalligraphischem Papier und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe **3** und **5**). Zum Vergleich wird das Fluoreszenzspektrum von Probe **1** gezeigt. Die maximale Intensität der Spektren wurde auf 1 normiert.

Diese unterschiedlichen Emissionswellenlängen sind auf Interaktionen des Farbstoffmoleküls mit den Trägermaterialien zurückzuführen, wobei Wasserstoffbrücken eine entscheidende Rolle spielen könnten.

---

Dabei ist das Potential Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen sehr unterschiedlich, wenn Chitosan mit dem kalligraphischen Papier verglichen wird. Daneben müssen aber auch andere Effekte wie elektrostatische Interaktionen oder starke Interaktionen der Sulfonatgruppe berücksichtigt werden. Da Calcofluor White ein anionisches Farbstoffmolekül ist, wird eine Interaktion der Sulfonatgruppe mit den Aminogruppen der Glucosamineinheiten vermutet. Da das kalligraphische Papier keine Aminogruppen besitzt ist es unwahrscheinlich, dass diese Wechselwirkungen im kalligraphischen Papier auftreten, womit sich die signifikanten Unterschiede in den Emissionswellenlängen erklären lassen.

## 5.4 Fazit

Zusammenfassend wurde die DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  Festkörper NMR verwendet, um zu zeigen, dass das Farbstoffmolekül Calcofluor White mit den biopolymerbasierten Trägermaterialien in verschiedener Weise interagiert. Dabei spielen Interaktionen des für die Präparation verwendeten Wassers eine entscheidende Rolle. Im Detail wurden beim Vergleich der NMR Spektren von Chitosan und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White signifikante strukturelle Änderungen in der chemischen Umgebung des  $\text{C}_1$  der Glucosamin- und N-Acetylglucosamineinheiten gefunden. Dieses Verhalten wurde nicht für das kalligraphische Papier als Trägermaterial gefunden, bei dem strukturelle Änderungen durch die Präparation mit Wasser vernachlässigt werden können.

In ASE Experimenten zeigten beide Materialien eine sehr kleine FWHM Breite von 3 nm aber eine Rotverschiebung von 8 nm des Peakzentrums wurde für die mit Calcofluor White imprägnierte Chitosanprobe im Vergleich zur mit Calcofluor White imprägnierten Papierprobe gefunden. Diese zeigt, dass die Interaktionen des Farbstoffmoleküls mit dem Trägermaterial in Kombination mit strukturellen Veränderungen einen entscheidenden Einfluss auf die optischen Eigenschaften in ASE Experimenten haben.

---

## 6 Biofunktionalisierung von Cellulose basierten Materialien

---

### 6.1 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten zeigte sich ein gesteigertes Interesse an funktionalisierten Cellulose basierten Materialien für Diagnosemethoden[123], in der Lebensmittelsicherheit[126], der Mikrofluidik[125, 128, 133, 156], der Elektronik oder Photonik[9–12] sowie in der Sensorik/Biosensorik[1–6]. Dabei ist eine große Herausforderung, diese mit etablierten Methoden zu untersuchen, da diese Materialien einen hohen Grad an Unordnung und Komplexität aufweisen. Eine Möglichkeit um Papiere und andere Cellulose basierte Materialien zu untersuchen bietet die NMR, da diese eine Untersuchung der lokalen Umgebung ermöglicht. Dabei bieten verschiedene NMR Techniken die Möglichkeit Interaktionen zwischen Kernen sowie Kernen und ihrer chemischen Umgebung zu untersuchen.[46, 157] Um die Interaktionen zwischen Kernen zu analysieren ist es oftmals hilfreich 2D NMR Techniken anzuwenden. In der Flüssigkeits NMR wurde dies für Cellulose basierte Materialien bereits in mehreren Arbeiten etabliert.[18, 158] Ebenso wurden 2D Festkörper NMR Techniken verwendet um Cellulose basierte Materialien zu untersuchen.[14, 16, 159–161] Allerdings zeigt sich in diesen Publikationen bereits die Problematik der geringen Sensitivität der NMR. Um diese Techniken auf komplexe Materialien wie die biofunktionalisierten Cellulose basierten Materialien anwenden zu können ist es notwendig die Sensitivität der Festkörper NMR zu erhöhen, was die bereits in den vorherigen Kapiteln eingeführte Festkörper DNP ermöglicht.[57, 59, 116, 162]

Die Anwendung dieser Technik auf biofunktionalisierte Cellulose basierte Materialien ist in der Literatur von Fernando et al. [163] zusammengefasst und beinhaltet bisher Untersuchungen von Zellwänden und Biofilmen.

In diesem Kapitel soll die DNP verstärkte Festkörper NMR auf Funktionalisierungen von MCC und Papieren mit geschützten Aminosäuren und Peptiden angewendet werden um diese mit 1D und 2D Festkörper NMR Techniken zu charakterisieren.

### 6.2 Glycinfunktionalisierung auf Papieren und MCC

In diesem Unterkapitel soll die Isotopenmarkierung mit der Verstärkung durch DNP kombiniert werden um REDOR- sowie Korrelationsexperimente an funktionalisierten Cellulose basierten Materialien durchzuführen.

Zunächst wird ein System mit  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin angebunden auf Papier mit DNP verstärkter Festkörper NMR untersucht. An diesem System werden REDOR Experimente durchgeführt um die dipolaren Kopplungen zu untersuchen. Um die Sensitivität weiter zu steigern, wird im Anschluss  $^{13}\text{C}$  markiertes Fmoc-Glycin auf MCC angebunden. An diesem System werden zunächst  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR DNP Experimente getestet, um Informationen über die Anbindung der Funktionalisierung an das Trägermaterial

zu erhalten. Anschließend werden DQrotreson Experimente eingeführt, um die dipolaren Kopplungen zwischen der Funktionalisierung und dem MCC Trägermaterial zu untersuchen. Der Rest des Unterkapitels ist wie folgt gegliedert. Nach dieser Einleitung werden die experimentellen Details der Synthese und der durchgeführten Messungen vorgestellt. An diesen Teil fügt sich ein Ergebnis- und Diskussionsteil an, der mit einem Fazit abgeschlossen wird.

## 6.2.1 Methoden

### Allgemein

Tabelle 6.1: Liste der Probenbezeichnung und Kurzbeschreibung

Probenbezeichnung	Probenpräparation	DNP Matrix	Abbildungen
$^{13}\text{C}_1$ Fmoc-Glycin MCC	2 Eq $^{13}\text{C}_1$ Fmoc-Glycin pro 1 Eq MCC Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.4, 6.5
$^{15}\text{N}$ Fmoc-Glycin Papier	2 Eq $^{15}\text{N}$ Fmoc-Glycin pro 1 Eq Papier Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.2, 6.3b, 6.31
$^{15}\text{N}$ Fmoc-Glycin		15 mM TEKPol TCE	6.3a
MCC Referenz		15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.5

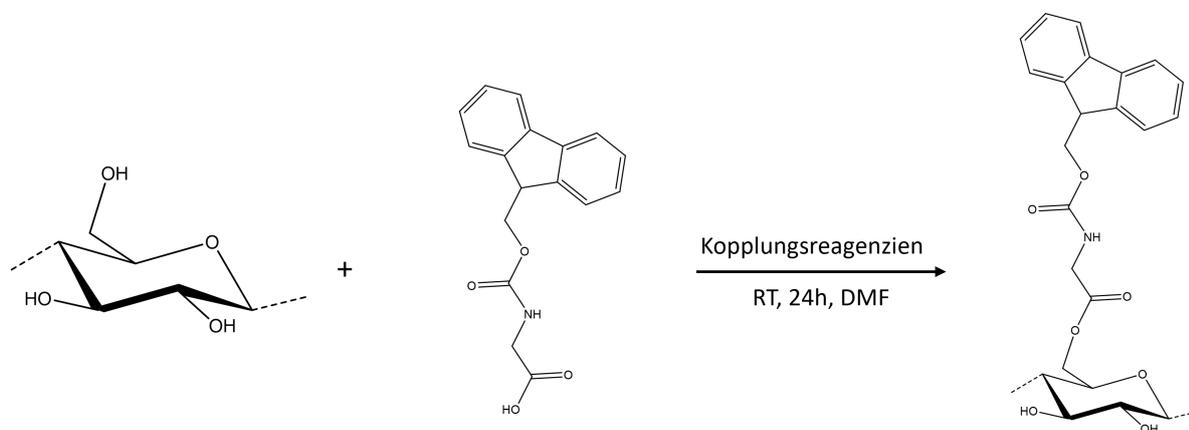


Abbildung 6.1: Schematische Darstellung der Funktionalisierung des Papiers/MCC mit Fmoc-Glycin.

### Synthese des $^{15}\text{N}$ markierten Fmoc-Glycin modifizierten Papiers

Die Synthese des  $^{15}\text{N}$  markierten Fmoc-Glycin modifizierten Papiers wurde von Lorenz Rösler und Luca Walcher durchgeführt.

*Vorbehandlung der Papiere:* Das Papier aus Baumwollfasern wurde in Streifen mit einem Gewicht von

---

etwa 60 mg geschnitten und mit 10-20 ml einer 10% wässrigen NaOH Lösung behandelt. Nach dem Einweichen über Nacht wurde die Lösung vorsichtig mit Ethanol ausgetauscht. Im Anschluss wurden die Papierstreifen drei Mal mit 20 ml Ethanol und vier Mal mit 20 ml Dimethylformamid (DMF) auf einem Glassfilter gewaschen, indem das Lösemittel mit reduziertem Druck abgesaugt wurde. Die vorbehandelten Cellulosestreifen wurden dann für die Funktionalisierungsreaktion ohne vorheriges Trocknen verwendet.

*Funktionalisierung mit  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin:* Die Funktionalisierung ist in Abbildung 6.1 schematisch dargestellt. Typischerweise wurden die vorbehandelten Papierstreifen (60 mg Cellulose, 0,37 mmol Glukoseeinheit, 1 Äquivalent) jeweils in einen Einzug in einer Schraubflasche gehängt und mit einer Lösung aus  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin mit 68,2 mg (0,56 mmol, 1,5 Äquivalente) DMAP und 141,9 mg (0,74 mmol, 2 Äquivalente) EDC·HCl als Kopplungsreagenz in 40 ml trockenem DMF gefüllt. Die Menge des  $^{15}\text{N}$  markierten Fmoc-Glycins wurde zu 220,8 mg (0,74 mmol sowie 2 Äquivalente) bestimmt. Die Reaktionsmischung wurde vorsichtig für 24 h gerührt bevor die Papierstreifen entfernt wurden. Die funktionalisierten Papierstreifen wurden mit 20 ml DMF, Tetrahydrofuran, Dichloromethan und zwei Mal mit Ethanol und deionisiertem Wasser gewaschen und dann unter reduziertem Druck getrocknet. In Tabelle 6.1 ist ein Überblick aller präparierten Proben und den dazugehörigen Messungen zu finden.

### Synthese des $^{13}\text{C}_1$ markierten Fmoc-Glycin modifizierten MCC

Die Synthese des  $^{13}\text{C}_1$  markierten Fmoc-Glycin modifizierten Papiers wurde von Lorenz Rösler durchgeführt.

*Funktionalisierung mit  $^{13}\text{C}$  markiertem Fmoc-Glycin:* Die Funktionalisierung ist in Abbildung 6.1 schematisch dargestellt. Es wurde MCC (40 mg Cellulose, 0,25 mmol Glukoseeinheiten, 1 Äquivalent) in einer Schraubflasche eingewogen und mit einer Lösung aus  $^{13}\text{C}_1$  markiertem Fmoc-Glycin mit 69,1 mg (0,56 mmol, 2 Äquivalente) DMAP und 142,7 mg (0,74 mmol, 2 Äquivalente) EDC·HCl als Kopplungsreagenz in 40 ml trockenem DMF gefüllt. Die Menge des  $^{13}\text{C}_1$  markierten Fmoc-Glycins wurde zu 221,3 mg (0,74 mmol, 2 Äquivalente) bestimmt. Die Reaktionsmischung wurde vorsichtig für 24 h gerührt bevor das funktionalisierte MCC mit 20 ml DMF, Tetrahydrofuran, Dichloromethan und zwei Mal mit Ethanol und deionisiertem Wasser gewaschen wurde. Das funktionalisierte MCC wurde dann unter reduziertem Druck getrocknet. In Tabelle 6.1 ist ein Überblick aller präparierten Proben und den dazugehörigen Messungen zu finden.

### DNP verstärkte Festkörper NMR Experimente:

Für die DNP Probenpräparation wurden 12 mg der jeweiligen Probe mit 12  $\mu\text{L}$  der in Tabelle 6.1 angegebenen Radikallösung imprägniert.

Alle Festkörper DNP NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 400 DNP Spektrometer bei einem Magnetfeld von 9,4 T gemessen, was einer Frequenz von 401,63 MHz für  $^1\text{H}$ , 101,00 MHz für  $^{13}\text{C}$  und 40,70 MHz für  $^{15}\text{N}$  entspricht. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf ausgestattet, welcher in der Konfiguration  $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  verwendet wurde, und einem 9,7 T Bruker Gyrotronsystem, welches MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf 4 s gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 30 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118]

---

angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 128 Scans gemessen und auf TSP (0 ppm) referenziert.

$^{13}\text{C}\{^{15}\text{N}\}$  REDOR Experimente wurden mit der Pulssequenz aus Kapitel 3.2.3 bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf 4 s gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 35 ms wurde eine spinal64 Entkopplung [118] angewendet. Der  $^{13}\text{C}$  Kanal wurde für die Detektion verwendet und auf dem  $^{15}\text{N}$  Kanal wurden  $\pi$ -Pulse mit einer Länge von 10  $\mu\text{s}$  eingestrahlt. Mit größerer Dephasierungszeit wurden die Spektren mit mehr Scans aufgenommen. Die Spektren wurden auf TSP (0 ppm) referenziert. Die normierte Dephasierung  $\Delta S/S_0$  wird gegen die Dephasierungszeit  $\tau$  dargestellt.

2D homonukleare  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  Korrelationsexperimente wurden mit der DARR Pulssequenz (Kapitel 3.2.3) aufgenommen. Die Parameter für die CP wurden aus dem  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Experiment übernommen. Während der Einkopplung wurde ein Continuous Wave (CW) Feld mit 8 kHz auf dem  $^1\text{H}$  Kanal eingestrahlt. Die  $\pi/2$  Pulslänge auf dem  $^{13}\text{C}$  Kanal wurde auf 4  $\mu\text{s}$  gesetzt. Die Spektren wurden mit 80 Scans und 832 Slices aufgenommen. Die direkte und indirekte Dimension wurde auf TSP (0 ppm) referenziert.

Das  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum wurde mit der Pulssequenz, welche in Kapitel 3.2.3 beschrieben wurde, gemessen. Die Parameter Kontaktzeit, Wiederholzeit und Akquisitionszeit wurden aus dem  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Experiment übernommen. Eine  $\pi/2$  Pulslänge von 4  $\mu\text{s}$ , eine  $\pi/4$  Pulslänge von 2  $\mu\text{s}$  und ein Anregungsintervall ( $\tau_{exc}$ ) von 0,5 ms wurden für den  $^{13}\text{C}$  Kanal verwendet. Die Anregung wurde auf die Frequenz des C=O Signals (173 ppm) gesetzt und das C<sub>6</sub> Signal der Cellulose (65 ppm) wurde mit einer Rotationsfrequenz von 10,861 kHz in Rotationsresonanz gesetzt. Das Spektrum wurde mit 2048 Scans aufgenommen und auf TSP (0 ppm) referenziert.

Um Verstärkungsfaktoren der DNP NMR Spektren erhalten zu können wurde die gleiche Probe mit und ohne MW gemessen. Die Faktoren wurden berechnet, indem die Peakmaxima auf den gleichen Wert skaliert wurden. Der Fehler wurde abgeschätzt, indem der prozentuale Fehler des Rauschlevels für beide Spektren aufsummiert wurde.

## 6.2.2 Ergebnisse und Diskussion

### Charakterisierung des $^{15}\text{N}$ markierten Fmoc-Glycin funktionalisierten Papiers

Um nachzuweisen, dass  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin auf dem Papierträgermaterial vorhanden ist, wurden  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Experimente des funktionalisierten Papiers aufgenommen. Aus Abbildung 6.2a lässt sich eine Verstärkung von  $100\pm 5$  für die Signale der Cellulose berechnen, was einer Zeitersparnis von ca. 10.000 entspricht. Die Signale zwischen 55-110 ppm können den C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> des Papiers und den Kohlenstoffen des Glycerols in der DNP Matrix zugeordnet werden. In Abbildung 6.2b ist eine Vergrößerung des  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektrums gezeigt, in welchem deutliche Rotationsseitenbanden des Glycerolsignals und schwächere Rotationsseitenbanden für das Cellulosesignal sichtbar sind, wodurch die Zuordnung der Signale des  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycins erschwert wird. Lediglich die Signale bei 173 ppm und 131 ppm können dem C=O Kohlenstoff des Glycins und den Kohlenstoffen der aromatischen Struktur im Fmoc zugeordnet werden. Diese zeigen klar dass  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin in der Probe enthalten ist.

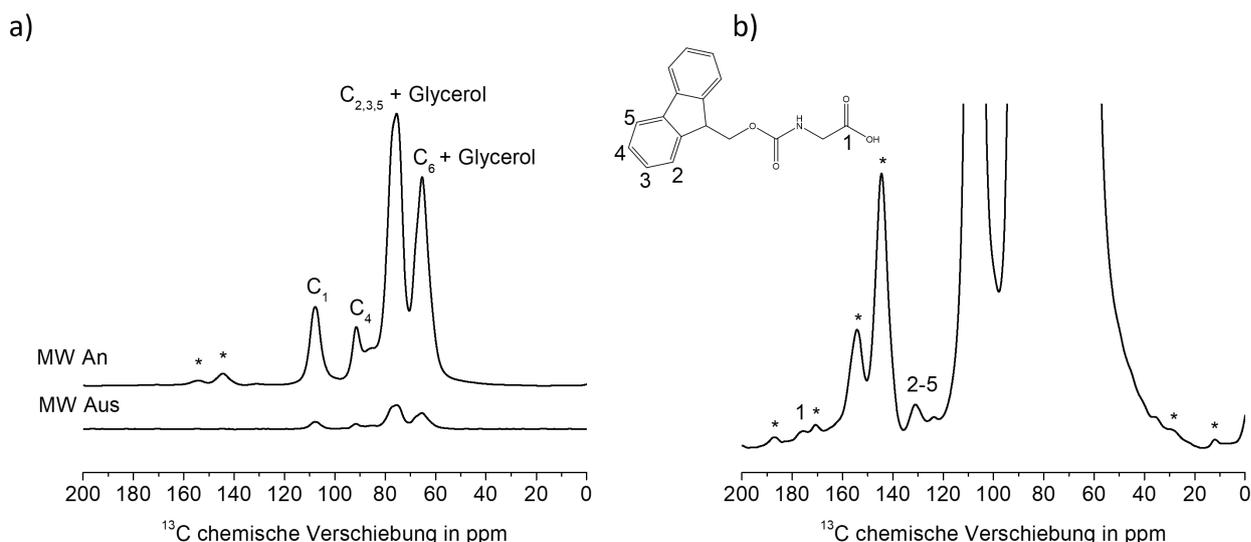


Abbildung 6.2:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier mit a) MW An und Aus und b) als Vergrößerung mit einer Zuordnung der sichtbaren Signale. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

Diese ersten Experimente liefern jedoch keine eindeutigen Hinweise über die Intaktheit des Fmoc-Glycins während der Herstellung des funktionalisierten Papiers. Um diese zu überprüfen können REDOR Experimente (siehe Kapitel 3.2.3) eingesetzt werden. Um diese Messungen durchführen zu können ist es aus Sensitivitätsgründen notwendig zusätzlich zu der DNP Verstärkung  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin an Papier anzubinden. Die REDOR Experimente erlauben es über die dipolare Kopplung zwischen einem  $^{15}\text{N}$  Kern und einem  $^{13}\text{C}$  Kern Informationen über die Distanz zwischen diesen Kernen zu erhalten. Dabei zeigt sich ein Abnehmen des  $^{13}\text{C}$  Signals mit steigender Dephasierungszeit im Vergleich zum Referenzspektrum ohne Dephasierung. Diese Signalabnahme ist im Anhang Abbildung 6.31 exemplarisch für das  $\text{C}=\text{O}$  Signal des  $^{15}\text{N}$  markierten Fmoc-Glycins auf Papier dargestellt. In Abbildung 6.3 ist diese normierte Abnahme des Signals (vollständige Dephasierung bei einem Wert  $\Delta\text{S}/\text{S}$  von 1) über die Dephasierungszeit für das  $^{15}\text{N}$  markierte Fmoc-Glycin auf Papier (Abbildung 6.3b) und für reines  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin (Abbildung 6.3a) aufgetragen. Durch Fitten der Funktion 3.18 an die erhaltenen Daten ergibt sich eine dipolare Kopplungskonstante von  $\omega_D = 0,22 \pm 0,02$  kHz für  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin auf Papier und  $\omega_D = 0,217 \pm 0,004$  kHz für reines  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin. Daraus lässt sich eine Distanz von etwa  $2,56 \pm 0,08 \text{ \AA}$  für  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin auf Papier und  $2,57 \pm 0,02 \text{ \AA}$  für reines  $^{15}\text{N}$  markiertes Fmoc-Glycin über die Formel

$$r^3 = \frac{\omega_{DHH} \gamma_1 \gamma_2}{\omega_D \gamma_H^2} \quad (6.1)$$

berechnen. Dabei ist  $\omega_{DHH} \approx 2\pi \cdot 23$  kHz die dipolare Kopplungskonstante zwischen zwei Protonen und  $\gamma$  das gyromagnetische Verhältnis. Der Fehler entspricht dem Standardfehler, welcher durch den Fit bestimmt wurde. Die Übereinstimmung der beiden Werte zeigt deutlich, dass das Glycin im reinen  $^{15}\text{N}$  markierten Fmoc-Glycin und auf Papier seine Struktur beibehalten hat. Da diese Struktur oftmals entscheidend für die Funktionalität der Funktionalisierung ist, kann angenommen werden, dass diese für unser Modellsystem

erhalten bleibt.

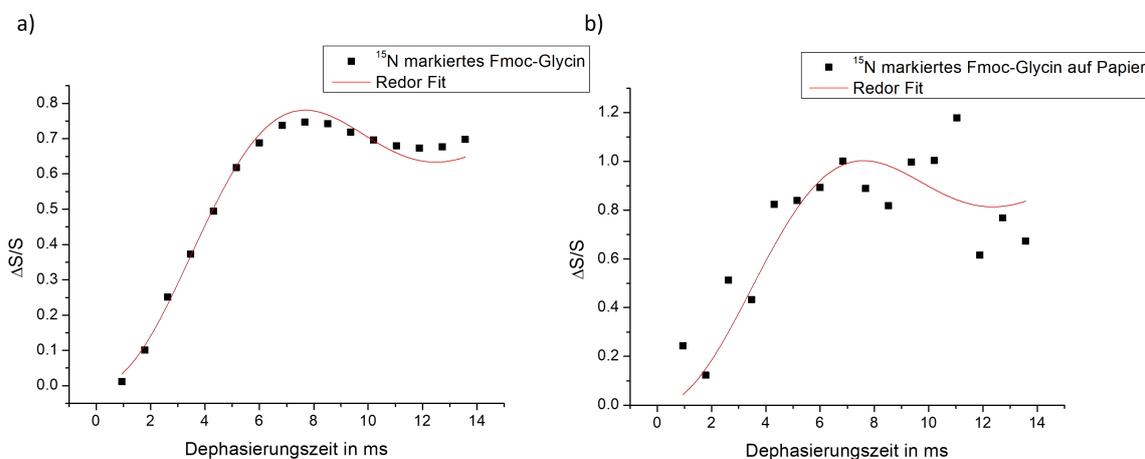


Abbildung 6.3: DNP verstärktes  $^{13}\text{C}\{^{15}\text{N}\}$  REDOR Experiment von a) reinem  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin in einer 15 mM TEKPol TCE Matrix und b)  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier in einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix.

Diese Messungen wurden ohne  $^{13}\text{C}$  und mit  $^{15}\text{N}$  Markierung der Probe durchgeführt.

### $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ Korrelationsexperimente

Um die Sensitivität weiter zu steigern wird im folgenden eine  $^{13}\text{C}$  Isotopenmarkierung des Fmoc-Glycins an der Carbonylfunktion verwendet ( $^{13}\text{C}$ -Fmoc-Glycin), sowie die Oberfläche für mögliche Anbindungen durch Verwendung von MCC anstelle von Papier erhöht. Des Weiteren wird im folgenden für Cellulose basierte Materialien anstelle einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1) Matrix eine 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1) Matrix verwendet, welche zwar eine leicht geringere Verstärkung ( $100 \pm 5$  zu  $65 \pm 4$ ) aufweist, jedoch wird dadurch die Signalüberlagerung durch die Signale des Glycerols und dessen Rotationsseitenbanden vermieden.

Da die bisher beschriebenen Experimente keine Informationen über die räumliche Nähe des  $^{13}\text{C}$  Kohlenstoffs des Glycins zu den Cellulosekohlenstoffen liefern ist es notwendig Korrelationsexperimente durchzuführen. Eine Möglichkeit bietet das  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Experiment (Kapitel 3.2.3). In den  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren des  $^{13}\text{C}$  markierten Fmoc-Glycins auf MCC (Abbildung 6.4b) sind auf der Hauptdiagonale Signale zu sehen, welche den Eigenkorrelationen zugeordnet werden können. Zusätzlich sind weitere Signale sichtbar, welche den Korrelationen zu den Rotationsseitenbanden zugeordnet werden können (Nebendiagonalen). Eine genauere Analyse der Spektren zeigt zusätzliche Korrelationen außerhalb der Haupt- und Nebendiagonalen. In Abbildung 6.4a ist eine Vergrößerung des relevanten Bereiches des DNP verstärkten  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektrums gezeigt.

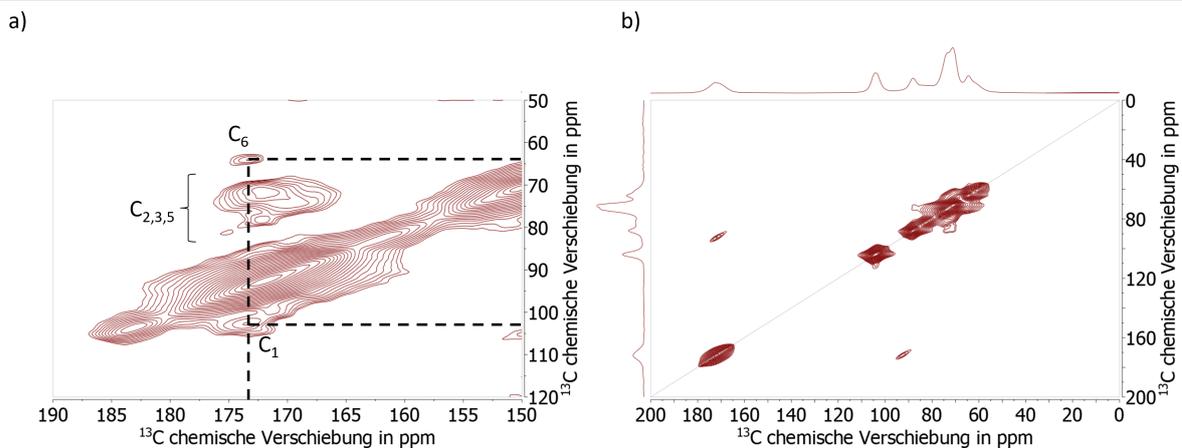


Abbildung 6.4: DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Korrelationsspektren des  $^{13}\text{C}$  markierten Fmoc-Glycins an der C=O Position auf MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz mit einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

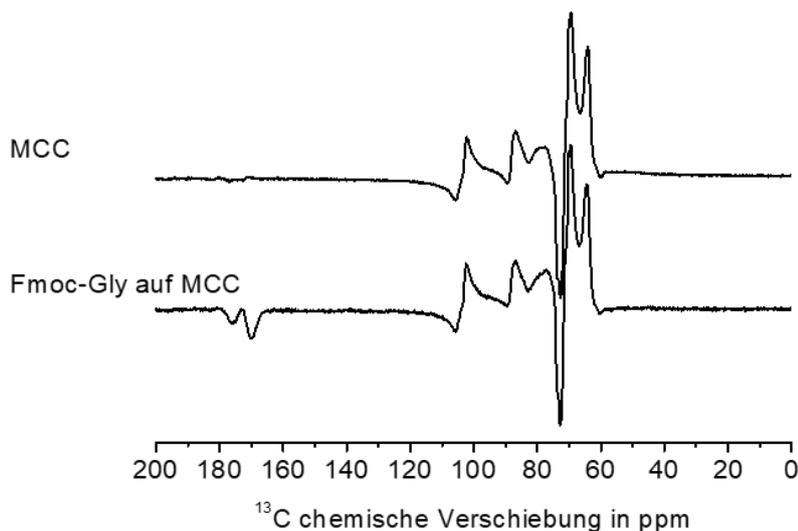


Abbildung 6.5: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum von  $^{13}\text{C}$  markiertem Fmoc-Glycin auf MCC und reinem MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren sind auf ihre maximale Intensität normiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10,861 kHz mit einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

Dort sind Korrelationspeaks bei (173 ppm, 103 ppm), (173 ppm, 64 ppm) und (173-169 ppm, 70,5-78,5 ppm) zu sehen. Diese sind ein starkes Indiz für die räumliche Nähe des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  des Glycins zu den Kohlenstoffen der Cellulose  $\text{C}_1$  (103 ppm),  $\text{C}_6$  (64 ppm) und  $\text{C}_{2,3,5}$  (70,5-78,5 ppm).

---

Diese Experimente geben jedoch keinen Aufschluss darüber, ob das Fmoc-Glycin an die Cellulose angebunden ist. Eine Möglichkeit diese zu untersuchen bieten DQrotreson Experimente (Kapitel 3.2.3). Diese Experimente erlauben die Untersuchung der dipolaren Kopplung, welche über die Rotationsresonanz eingekoppelt wird. Zusätzlich können die dipolaren Kopplungen über ihre Stärke durch die Doppelquantenanregung und das Anregungsintervall  $\tau_{exc.}$  gefiltert werden.

Das DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum von  $^{13}\text{C}$  markiertem Fmoc-Glycin auf MCC und reines MCC als Vergleich ist in Abbildung 6.5 gezeigt. Der Vergleich zeigt, dass bei beiden Proben ein Signal bei 173 ppm zu sehen ist. Die Intensität des Signals der MCC Probe liegt jedoch nur minimal über dem Rauschlevel. Dieses Signal stammt vermutlich von einem Rotationsseitenband des  $\text{C}_6$  der Cellulose, während das Signal der Fmoc-Glycin Probe dem  $^{13}\text{C}=\text{O}$  im Glycin zugeordnet werden kann. Das zeigt, dass das Rotationsseitenband des  $\text{C}_6$  bei 173 ppm im Vergleich zum  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signal in der Analyse vernachlässigt werden kann. Das  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signal des Glycins ist außerdem in zwei Peaks aufgespalten, deren Maxima etwa 605 Hz voneinander separiert sind. Diese Aufspaltung wird durch die gewählte Rotationsresonanzbedingung zwischen dem  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signal des Glycins und dem  $\text{C}_6$  der Cellulose im DQrotreson Experiment erzeugt. Das Signal bei 64 ppm zeigt eine invertierte Phase, welche die dipolare Kopplung des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  mit dem  $\text{C}_6$  der Cellulose bestätigt. In erster Näherung lässt sich die Aufspaltung des Signals bei 173 ppm in eine dipolare Kopplungskonstante von 2092 Hz und somit in eine C-C Distanz von  $2,8 \text{ \AA}$  nach der semiempirischen Formel von Verdegem et al.[40] konvertieren (für Details siehe Kapitel 3.2.3). Es kann eine Abschätzung des Fehlers der Aufspaltung durch die Linienbreite der individuellen Peaks gemacht werden. Diese beträgt 216 Hz, was einer Distanz von  $0,3 \text{ \AA}$  entspricht. Der Wert von  $2,8 \text{ \AA}$  entspricht zwei C-O Bindungslängen ( $2 \cdot 1,43 \text{ \AA} \approx 2,85 \text{ \AA}$ ), was die räumliche Nähe des Glycins zur Cellulose bestätigt und auf die Ausbildung einer Esterbindung hindeutet.

### 6.2.3 Fazit

In diesem Kapitel wurde eine erfolgreiche Syntheseroute für die Funktionalisierung von MCC sowie Papier mit Fmoc-Glycin eingeführt, was durch DNP verstärkte Festkörper NMR bestätigt wurde. Mit Hilfe von REDOR Experimenten an  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier konnte der Erhalt der Struktur des Fmoc-Glycins vor und nach der Anbindung auf Papier und somit der potentielle Erhalt der Funktionalität gezeigt werden. Für  $^{13}\text{C}$  markiertes Fmoc-Glycin, welches auf MCC angebunden wurde, konnten zusätzlich  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR und DQrotreson Experimente durchgeführt werden. Erstere zeigten die räumliche Nähe der Funktionalisierung zu den Kohlenstoffen in der Cellulose. Durch DQrotreson Experimente konnte eine Distanz von etwa  $2,8 \text{ \AA}$  zwischen dem Carbonyl des Glycins und dem  $\text{C}_6$  der Cellulose berechnet werden. Dies entspricht in guter Näherung zwei C-O Bindungslängen. Dies ist ein starker Hinweis darauf, dass das  $^{13}\text{C}$  markierte Fmoc-Glycin über eine Esterbindung mit dem  $\text{C}_6$  der Cellulose verknüpft ist.

## 6.3 Prolinfunktionalisierung auf Papieren

Eine weitere Möglichkeit um die Sensitivität der NMR zu erhöhen ist, neben der Isotopenmarkierung, die Verwendung eines Spinlabels. Durch sein hohes gyromagnetisches Verhältnis und seine hohe natürliche Häufigkeit ist  $^{19}\text{F}$  sehr gut als solches geeignet. In diesem Unterkapitel wird *N*-*boc-cis*-4-fluoro-L-prolin (im Folgenden abgekürzt mit Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ )), welches als Modellmolekül für Biofunktionalisierungen auf Papiermaterialien stehen soll, als Spinlabel für Festkörper NMR Strukturanalysen verwendet. Dabei wird gezeigt, wie dieses Molekül als Spinlabel verwendet werden kann, um lokale Umgebungen mit Festkörper NMR Techniken zu untersuchen und wie dieses Spinlabel genutzt werden kann, um die Sensitivität erheblich zu verbessern.

Zunächst wird ein effizienter Weg zur Funktionalisierung von Papier aus Baumwollfasern mit dem Spinlabel Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) dargelegt. Im weiteren Schritt wird dieses funktionalisierte Papier mit  $^{19}\text{F}$  Festkörper NMR quantifiziert und mit Hilfe des Spinlabels das lokale Protonenumfeld mit  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  heteronuklearen ( $^1\text{H} \rightarrow ^{19}\text{F}$  CP MAS Frequency Switched Lee Goldberg (FSLG) Hetero Correlation (HETCOR)) Experimenten untersucht. In Kombination mit DNP wird das Spinlabel anschließend verwendet, um Funktionalisierungen auf Papier im mikromolaren Bereich zu detektieren.

Das restliche Unterkapitel ist folgendermaßen organisiert. Nach der Einleitung werden die experimentellen Details der Synthese und der Experimente dargelegt. Die Ergebnisse der synthetischen Arbeit und der NMR Charakterisierung werden anschließend vorgestellt und bezüglich der Effizienz, Anwendbarkeit und Sensitivität des Spinlabels analysiert und diskutiert.

### 6.3.1 Methoden

#### Allgemein

Die unfunktionalisierten Papiere wurden von Jan-Lukas Schäfer hergestellt. Alle Proben mit 4:1 Äquivalenzen des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Papiers wurden von Waranya Limprasart synthetisiert. Alle  $^1\text{H} \rightarrow ^{19}\text{F}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektren wurden von Dr. Hergen Breitzke aufgenommen.

Tabelle 6.2: Liste der Probenbezeichnungen und Beschreibungen

Probenbezeichnung	Probenpräparation	DNP Matrix	Abbildungen
2:1 Referenz	2 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) pro 1 Äq. Papier, ohne Kopplungsreagenz	Keine	6.7a
4:1 HATU+DIPEA	4 Äq. kommerzielles Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz DIPEA+HATU	Keine	6.7b
4:1 EDC·HCl	4 Äq. kommerzielles Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	Keine	6.7c, 6.8, 6.9b,d

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle 6.2 – Fortsetzung aus der vorherigen Seite

Probenbezeichnung	Probenpräparation	DNP Matrix	Abbildungen
Boc-Pro( <sup>19</sup> F)	kommerzielles Boc-Pro( <sup>19</sup> F)	Keine	6.7d, 6.9a,c
2:1 EDC·HCl	2 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	Keine	6.8
1:1 EDC·HCl	1 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	Keine	6.8
0,5:1 EDC·HCl	0,5 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	Keine	6.8
2:1 EDC·HCl	2 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.10a,c,d
1:1 EDC·HCl	1 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.10c
0,5:1 EDC·HCl	0,5 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.10c
Boc-Pro( <sup>19</sup> F)	kommerzielles Boc-Pro( <sup>19</sup> F)	15 mM AMUPol D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (9:1 w/w)	6.10c,d
4:1 EDC·HCl	4 Äq. kommerzielles Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.11a
2:1 EDC·HCl	2 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.11b
1:1 EDC·HCl	1 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.11b

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle 6.2 – Fortsetzung aus der vorherigen Seite

Probenbezeichnung	Probenpräparation	DNP Matrix	Abbildungen
0,5:1 EDC·HCl	0,5 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.11b
0,125:1 EDC·HCl	0,125 Äq. synthetisiertes Boc-Pro( <sup>19</sup> F) pro 1 Äq. Papier, Kopplungsreagenz EDC·HCl	15 mM AMUPol Glycerol-d <sub>8</sub> /D <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> O (6:3:1 w/w/w)	6.11b

Die Papiere auf Baumwollfaserbasis wurden mit einem Basisgewicht von 50 g/m<sup>2</sup>, wie bereits von Stockert et al. [164] beschrieben, hergestellt. Dabei wurde ein HAAGE Papierformer BB unter Berücksichtigung der DIN 54358 und ISO 5269/2 verwendet um die Papiere herzustellen [Mittlere Faserlänge (Längengewicht): 1,07 mm; Verschlaufung: 33,8%; Fibrillierungsgrad: 1,6%; Feininhalt: 16,5%]. Nach der Herstellung wurden die Papiere bei 93 °C bei verringertem Druck für 10 min getrocknet und in einer Klimakammer bei 23 °C und 50% Luftfeuchtigkeit gelagert.

Für die Herstellung der 2:1, 1:1, 0.5:1 funktionalisierten Papiere mit EDC·HCl als Kopplungsreagenz wurde Boc-Pro(<sup>19</sup>F) analog zu der Prozedur von L'Heureux et al. [165] (genauere Informationen siehe Publikationsliste [2]) von Dr. Max Fleckenstein hergestellt. Für alle anderen Proben wurde Boc-Pro(<sup>19</sup>F) von abcr GmbH (Reinheit 97%) ohne weitere Aufreinigung verwendet. Zur Überprüfung der Struktur und der Reinheit der Proben wurden Flüssigkeits NMR Spektren aufgenommen. EDC·HCl, DIPEA, 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) und HATU wurde von Carl Roth GmbH + Co. KG bezogen.

Für Festkörper NMR und DNP Probenpräparation wurde (6-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl) Essigsäure (TFMPCA), glycerol-d<sub>8</sub> (Reinheit ≥98%) und D<sub>2</sub>O (Reinheit ≥99,9%) von Sigma-Aldrich, und AMUPol[54] von Cortecnet (Frankreich) bezogen, und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

#### Synthese des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) modifizierten Papiers:

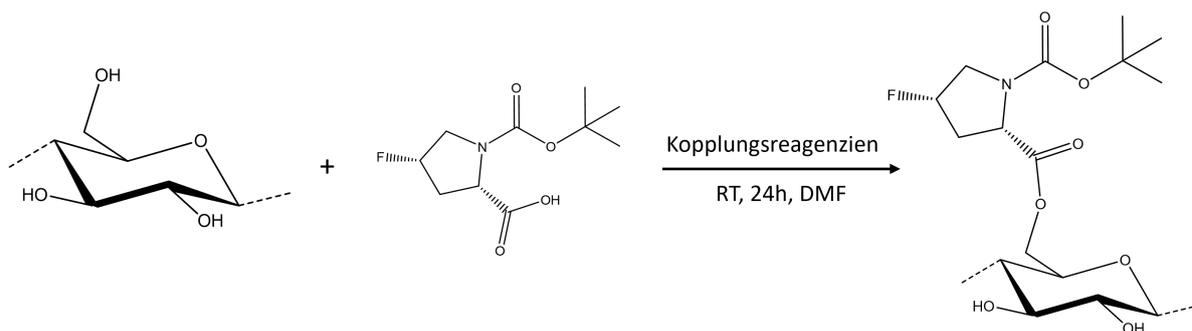


Abbildung 6.6: Schematische Darstellung der Funktionalisierung des Papiers mit Boc-Pro(<sup>19</sup>F).

*Vorbehandlung der Cellulose:* Das Papier aus Baumwollfasern wurde in Streifen mit einem Gewicht von etwa 60 mg/Stück geschnitten und in 10-20 ml einer 10% wässrigen NaOH Lösung eingeweicht. Nach dem Einweichen über Nacht wurde die Lösung vorsichtig mit Ethanol ausgetauscht. Im Anschluss wurden die Papierstreifen drei Mal mit 20 ml Ethanol und vier Mal mit 20 ml DMF auf einem Glasfilter gewaschen, indem das Lösemittel mit reduziertem Druck abgesaugt wurde. Die vorbehandelten Cellulosestreifen

---

wurden dann für die Funktionalisierungsreaktion ohne vorheriges Trocknen verwendet.

**Funktionalisierung mit Boc-Pro(<sup>19</sup>F):** Die Funktionalisierung ist in Abbildung 6.6 schematisch dargestellt. Typischerweise wurden die vorbehandelten Papierstreifen (60 mg Cellulose, 0,37 mmol Glukoseeinheiten, 1 Äquivalent) jeweils in einen Einzug in einer Schraubflasche gehängt, welche mit einer Lösung aus Boc-Pro(<sup>19</sup>F) mit 67,8 mg (0,56 mmol, 1,5 Äquivalente) DMAP und 283,8 mg (1,48 mmol, 4 Äquivalente) EDC-HCl oder 71,7 mg (0,56 mmol, 1,5 Äquivalente) DIPEA und 562,8 mg (1,48 mmol, 4 Äquivalente) HATU als Kopplungsreagenz in 40 ml trockenem DMF gefüllt wurde. Die Mengen von Boc-Pro(<sup>19</sup>F) wurden zu 10,8, 43,2, 86,3, 172,7 und 345,2 mg (0,05, 0,19, 0,37, 0,74 und 1,48 mmol sowie 0,125, 0,5, 1, 2 und 4 Äquivalente) bestimmt. Für die Probe ohne Kopplungsreagenz wurde eine Menge von 172,7 mg (0,74 mmol, 2 Äquivalente) des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) verwendet. Die Reaktionsmischung wurde vorsichtig für 24 h gerührt bevor die Papierstreifen entfernt und mit 20 ml DMF, Tetrahydrofuran, Dichloromethan und jeweils zwei Mal mit Ethanol und deionisiertem Wasser gewaschen wurden. Die Papierstreifen wurden dann unter reduziertem Druck getrocknet. In Tabelle 6.2 ist ein Überblick aller präparierten Proben und den dazugehörigen Messungen zu finden.

### Festkörper NMR Experimente

Alle quantitativen <sup>19</sup>F Festkörper NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 600 MHz Spektrometer mit einem Magnetfeld von 14,1 T gemessen, was einer Frequenz von 564,60 MHz für <sup>19</sup>F entspricht. Um <sup>19</sup>F MAS Spektren aufnehmen zu können wurde ein 3,2 mm <sup>1</sup>H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf umgebaut, sodass <sup>19</sup>F auf dem <sup>1</sup>H Kanal gemessen werden konnte. Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 18 kHz gemessen. Zur Anregung wurde ein  $\pi/2$  Puls mit einer Länge von 3,6  $\mu$ s verwendet. Um zu gewährleisten, dass die Spektren quantitative Informationen liefern, wurde eine Wiederholzeit von 10 s gewählt, was  $>3 \cdot T_1$  ist. Dabei wurde die  $T_1$  Zeit exemplarisch bei Raumtemperatur an der 4:1 Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Papierprobe und dem TFMPCA Standard mit Hilfe eines <sup>19</sup>F saturation recovery Experimentes bestimmt. Die Anzahl der Scans wurde zwischen 256 und 6144 Scans angepasst. TFMPCA wurde als interner Standard für die Quantifizierung (siehe Anhang) verwendet. Die Spektren wurden auf Trichlorfluormethan (CFCl<sub>3</sub>) (0 ppm) unter Verwendung von Bariumfluorid (BaF<sub>2</sub>) (-14,4 ppm) als externen Standard referenziert.

<sup>1</sup>H $\rightarrow$ <sup>19</sup>F CP MAS FSLG HETCOR Spektren wurden an einem Bruker Avance II+ 400 MHz Spektrometer mit einem Magnetfeld von 9,4 T gemessen, was einer Frequenz von 376,43 MHz für <sup>19</sup>F und 400,13 MHz für <sup>1</sup>H entspricht. Ein Bruker 3,2 mm <sup>1</sup>H/<sup>19</sup>F/X/Y Tripelresonanz Probenkopf wurde verwendet und die Probe bei einer Rotationsfrequenz von 14 kHz rotiert. Die Ighetfq Pulssequenz [166], welche in der Bruker TopSpin Software implementiert ist, wurde verwendet. Zur Anregung wurde ein  $\pi/2$  Puls mit einer Länge von 2,3  $\mu$ s auf dem <sup>1</sup>H Kanal eingestrahlt. Homonukleare Protonenentkopplung wurde während der Entwicklung der chemischen Verschiebung unter Verwendung eines B<sub>1</sub> Feldes von 109 kHz durchgeführt. Während der Kontaktzeit von 1 ms wurde mittels eines rechteckigen Spinlocks auf <sup>1</sup>H der CP Transfer ermöglicht. Die Wiederholzeit wurde auf 2 s gesetzt und 128 Slices wurden mit jeweils 128 Scans aufgenommen. Während der Aufnahme wurde <sup>1</sup>H heteronukleare Entkopplung mittels CW durchgeführt. Die <sup>1</sup>H Projektionen wurden aus den Slices mit der höchsten Signalintensität extrahiert. Die Dekonvolution wurde mit Hilfe von Lorenz/Gauß Funktionen durchgeführt.

### DNP verstärkte Festkörper NMR Experimente

Für alle Proben, welche mit DNP verstärkter NMR gemessen wurden, wurden 15 mg Probe mit 15  $\mu$ l der Radikallösung imprägniert. Für <sup>13</sup>C und <sup>15</sup>N Messungen wurde eine 15 mM AMUPol Lösung in D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (9:1 w/w) verwendet, um das Auftreten zusätzlicher Signale in den Spektren zu vermeiden. Für <sup>19</sup>F Messungen wurde eine 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol-d<sub>8</sub>/D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (6:3:1 w/w/w) verwendet, welche wie in Kapitel 5 beschrieben höhere Verstärkungsfaktoren zeigt.

Alle Festkörper DNP NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 400 DNP Spektrometer mit

---

einem Magnetfeld von 9,4 T aufgenommen, was einer Frequenz von 401,63 MHz für  $^1\text{H}$ , 377,88 MHz für  $^{19}\text{F}$ , 100,99 MHz für  $^{13}\text{C}$  und 40,69 MHz für  $^{15}\text{N}$  entspricht. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf ausgestattet, welcher für  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  Messungen in der Konfiguration  $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  und für  $^{19}\text{F}$  in der Konfiguration  $^{19}\text{F}/\text{X}$  verwendet wurde, und einem 9,7 T Bruker Gyrotronsystem, welches MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 30 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 1024 Scans gemessen und auf TMS (0 ppm) mit Glycerol (60,3 ppm für den Hochfeldpeak) als externen Standard referenziert.

$^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf  $1,3 \cdot T_B$  gesetzt. Während der Akquisitionszeit von 17 ms wurde eine TPPM Entkopplung[95] angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 14336 Scans aufgenommen. Alle Spektren wurden auf  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0 ppm) referenziert.

$^{19}\text{F}$  MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz mit einer modifizierten Background Supression Pulssequenz aufgenommen, welche auf der Bruker zgbs [167] Pulssequenz basiert. In dieser Pulssequenz wurden  $\pi/2$  Pulse mit einer Länge von  $3,2 \mu\text{s}$  und  $\pi$  Pulse mit einer Länge von  $6,4 \mu\text{s}$  verwendet. Die Akquisitionszeit wurde auf 8 ms festgelegt. Die Anzahl der Scans wurde zwischen 16 und 912 angepasst, je nach Menge an  $^{19}\text{F}$  Kernen in der Probe. Um die optimale Wiederholzeit zu bestimmen wurde die Aufbauzeit  $T_{B,^{19}\text{F}}$  der Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Probe in 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $d_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) bestimmt. Dies ergab einen Wert von  $T_{B,^{19}\text{F}} = 164 \text{ s}$ . Basierend auf diesem Ergebnis wurde die Wiederholzeit in allen Experimenten auf 205 s festgelegt, was größer als  $1,3 \cdot T_{B,^{19}\text{F}}$  ist. Alle Spektren wurden auf  $\text{CFCl}_3$  (0 ppm), unter Verwendung des externen Standards Polytetrafluorethylen (-124 ppm), referenziert.

Um Verstärkungsfaktoren zu berechnen wurde die gleiche Probe mit und ohne MW gemessen. Der Faktor wurde berechnet, indem die Peakmaxima auf den gleichen Wert skaliert wurden. Der Fehler wurde abgeschätzt, indem der prozentuale Fehler des Rauschlevels für beide Spektren aufsummiert wurde.

### 6.3.2 Ergebnisse und Diskussion

#### Synthese des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papiersubstrates und Basischarakterisierung mit $^{19}\text{F}$ MAS NMR

Als erstes ist es notwendig eine effiziente Syntheseroute für Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisiertes Papier zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurden zwei Syntheseprotokolle getestet (Details sind im Methodenteil zu finden). Die erste Route ist angelehnt an Cateto et al.[168] und verwendet EDC·HCl als Kopplungsreagenz mit DMAP als Base, wobei Papiere aus Baumwollfasern verwendet wurden. Als zweite Route, welche standardmäßig in der Peptidsynthese verwendet wird[169], werden als Kopplungsreagenzien HATU und DIPEA verwendet. Als Referenz (Blindprobe) wurde eine weitere Papierprobe in einer DMF Lösung analog zu den vorherigen präpariert, bei der jedoch kein Kopplungsreagenz zum Einsatz kam.

An diesen Proben wurden  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Messungen durchgeführt (siehe Abbildung 6.7), um das  $^{19}\text{F}$  Label in den Proben nachzuweisen. Dabei wurden die Proben mit dem internen Standard TFMPCA gemischt, um die Proben zudem quantifizieren zu können. Für die 2:1 Probe ohne Kopplungsreagenz ist lediglich das isotrope Signal des internen Standards bei -63 ppm und die dazugehörigen Rotationsseitenbanden zu sehen. Das zeigt, dass die Funktionalisierung des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) für die Probe ohne Kopplungsreagenz

unter dem Detektionsminimum der  $^{19}\text{F}$  MAS NMR liegt und für die gewählten Konditionen (Reaktionszeit, Temperatur, Lösemittel) keine adsorbierten Reste des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) auf der Oberfläche des Papiers vorliegen. Die Spektren der 4:1 Probe mit EDC·HCl + DMAP oder HATU + DIPEA als Kopplungsreagenz zeigen jeweils einen Peak bei -171,5 ppm. Dieses Signal im Vergleich zum Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zeigt das Vorhandensein des Spinlabels in diesen Proben. Das Signal bei -171,5 ppm in den Spektren der funktionalisierten Papiere besitzt eine Full Width at Half Max (Linienbreite) (FWHM) von ca. 4250 Hz im Vergleich zu 1730 Hz der reinen Aminosäure Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass, unter Verwendung der angegebenen Kopplungsreagenzien und des Syntheseprotokolls, das Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) kovalent an das Papier gebunden oder zumindest chemisch adsorbiert ist.

Im Spektrum der reinen Aminosäure Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) sind zusätzliche Peaks zu sehen. Da diese Signale ebenfalls in anderen Proben zu sehen sind, handelt es sich vermutlich um Verunreinigungen des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ), welche an das Papier adsorbiert sind.

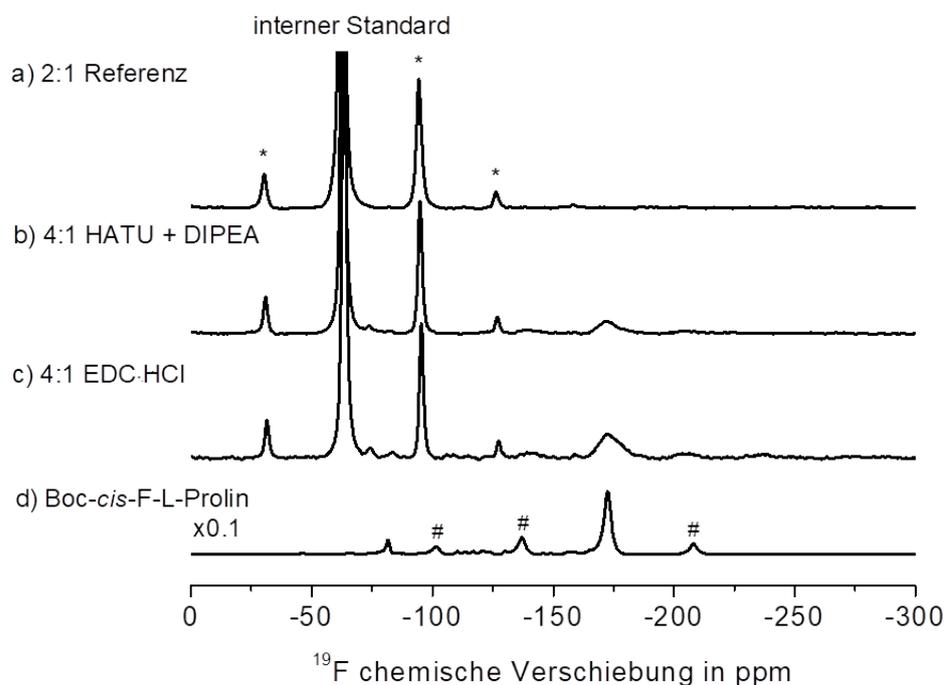


Abbildung 6.7: Quantitative  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papieren aus Baumwollfasern mit folgenden Syntheserouten: (a) ohne Kopplungsreagenz, (b) mit HATU+DIPEA als Kopplungsreagenz, (c) mit EDC·HCl+DMAP als Kopplungsreagenz. (d) Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) als Vergleich. Die Spektren (a)-(c) wurden mit TFMPCA als internen Standard und (d) wurde ohne internen Standard gemessen. Die Spektren wurden auf ihre maximale Intensität normiert. Spektrum d) wurde mit einem Zoomfaktor von 0,1 dargestellt. Sternchen (\*) und Rauten (#) zeigen die Position der Rotationsseitenbanden des internen Standards bzw. des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) an. Das Signal bei -81 ppm in Spektrum d) stammt von einer Verunreinigung. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz bei einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

### Quantifizierung der Boc-Pro(<sup>19</sup>F) funktionalisierten Baumwollpapiersubstrat mit <sup>19</sup>F MAS NMR

Als nächster Schritt wurde die Beladung der Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Papierproben (Menge des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) pro Gramm des Materials) mit den verschiedenen Syntheserouten mit <sup>19</sup>F MAS NMR Daten analysiert. Für die 4:1 Probe mit EDC·HCl als Kopplungsreagenz wurde eine Beladung von 178,0  $\mu\text{mol/g}$  erreicht, wohingegen für die 4:1 Probe mit HATU + DIPEA als Kopplungsreagenz eine Beladung von 68,9  $\mu\text{mol/g}$  erreicht wurde. Das zeigt deutlich, dass der Ansatz mit EDC·HCl als Koppungsreagenz effizienter ist als der Ansatz mit HATU+DIPEA für die Funktionalisierung von Papieren mit Boc-Pro(<sup>19</sup>F).

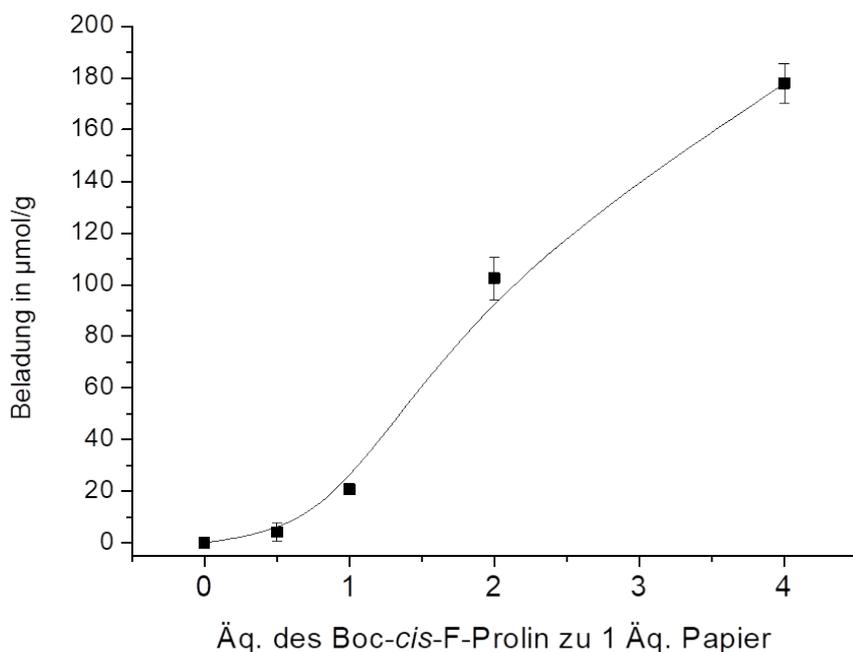


Abbildung 6.8: Beladung der Papiersubstrate mit Boc-Pro(<sup>19</sup>F) analysiert mit quantitativer <sup>19</sup>F MAS NMR (siehe Anhang 6.36) als Funktion des Verhältnisses der eingesetzten Aminosäure zur Anzahl der Glukoseeinheiten im Papier. Die eingezeichnete Linie dient zur Orientierung. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

Um die Leistungsfähigkeit der <sup>19</sup>F MAS NMR zu testen, wurde eine Reihe mit verschiedenen Funktionalisierungsbeladungen mit EDC·HCl als Kopplungsreagenz präpariert. In diesen Proben wurden 4, 2, 1, 0,5 und 0,125 Äquivalente Boc-Pro(<sup>19</sup>F) relativ zur Menge an Glukoseeinheiten des Papiers verwendet. Diese Proben wurden ebenfalls mittels <sup>19</sup>F MAS NMR quantifiziert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.8 graphisch dargestellt und die zugehörigen Spektren sind in Anhang Abbildung 6.36 zu finden. Für die 0,125:1 Probe konnte kein Signal detektiert werden, was an der zu geringen Sensitivität der <sup>19</sup>F MAS NMR liegt. Die Beladung dieser Probe kann durch eine Gerade zwischen den Punkten 0,5:1 und 0:1 extrapoliert werden. Diese führt zu einer ungefähren Beladung von 1  $\mu\text{mol/g}$  für die 0,125:1 Probe. Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Quantifizierung mittels <sup>19</sup>F MAS NMR nur für Proben mit einer Beladung von  $\geq 4 \mu\text{mol/g}$  in ökonomischer Messzeit möglich ist.

## Untersuchung der Struktur des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) funktionalisierten Papierses mit 2D Festkörper NMR

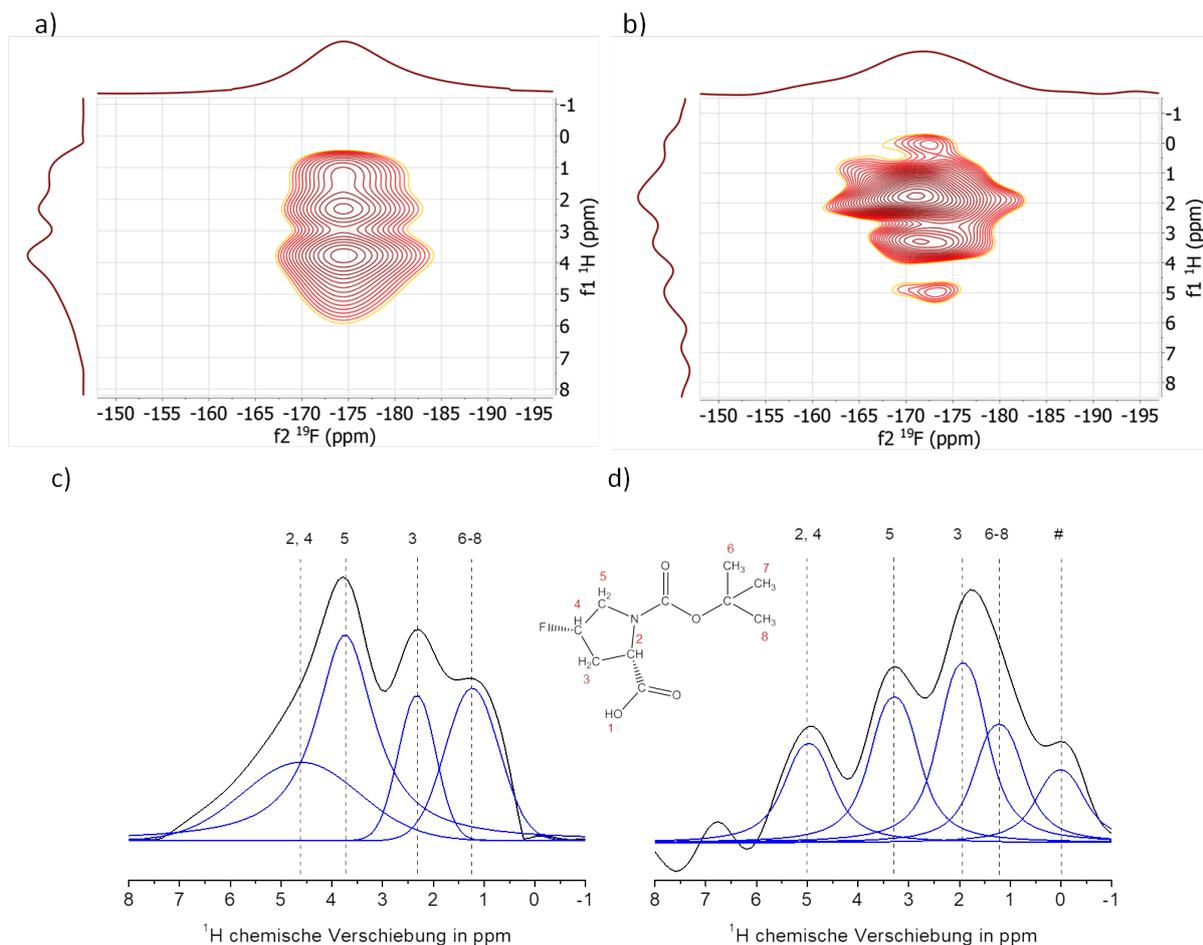


Abbildung 6.9: (a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{19}\text{F}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum des trockenen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und (c) Dekonvolution der Projektion der  $^1\text{H}$  Dimension und Signalzuordnung. (b)  $^1\text{H} \rightarrow ^{19}\text{F}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum der 4:1 EDC-HCl Probe und (d) Dekonvolution der Projektion der  $^1\text{H}$  Dimension und Signalzuordnung. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 14 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Die Signalzuordnung wurde anhand der  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG und  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektren (siehe Anhang 6.37) durchgeführt. Das mit Raute (#) markierte Signal stammt möglicherweise von einer Verunreinigung durch Schliff fett. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

Um die Struktur des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und die Interaktion mit der Papiermatrix zu untersuchen wurden  $^1\text{H} \rightarrow ^{19}\text{F}$  CP MAS FSLG HETCOR Experimente für reines Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) sowie für die 4:1 Probe mit EDC-HCl als Kopplungsreagenz durchgeführt. Die zugehörigen Spektren der unter Vakuum getrockneten Proben und die Dekonvolution der Projektionen sind in Abbildung 6.9 gezeigt. Beim Vergleich der Spektren der getrockneten Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Probe und der getrockneten 4:1 Probe mit EDC-HCl zeigt das Spektrum letzterer eine bessere Auflösung in der  $^1\text{H}$  Dimension. Dies lässt sich durch die hohe Verdünnung des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) in der 4:1 Probe im Vergleich zur reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Probe erklären, welche aggregieren kann. Eine weitere Erklärung für die höhere Auflösung ist die erhöhte Dynamik in der 4:1 Probe. Eine erhöhte Dynamik

---

könnte teilweise die dipolare Kopplung der  $^{19}\text{F}$  Kerne mit den  $^1\text{H}$  der Cellulose ausmitteln, was zu einer Verschmälerung der Peaks führt.

Der Vergleich der chemischen Verschiebungen, welche durch die Dekonvolution der Projektion erhalten wurden, liefern lediglich kleine Abweichungen ( $<0,5$  ppm). Das zeigt, dass das Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) durch den Prozess des Aufpfropfens auf das Papier intakt bleibt. In den Spektren der Papierprobe und ihrer  $^1\text{H}$  Projektion gibt es keine Indikation für eine räumliche Nähe des  $^{19}\text{F}$  des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zu den -OH Gruppen der Cellulose, welche breite Signale bei 4 ppm in der f1 Dimension im  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG Spektrum erwarten lassen. Somit kann angenommen werden, dass das  $^{19}\text{F}$  Label von den Celluloseketten ähnlich einer Bürste absteht.

### **DNP verstärkte Festkörper NMR der Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papiere**

Um das Problem der geringen Sensitivität der MAS NMR zu adressieren wurde diese mit DNP kombiniert.

#### *DNP verstärkte $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ und $^1\text{H}\rightarrow^{15}\text{N}$ CP MAS NMR*

Alle Proben für  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS NMR DNP Experimente (2:1, 1:1 und 0,5:1 Proben mit EDC·HCl) wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) präpariert. Vergleicht man die Spektren mit und ohne MW lassen sich Verstärkungsfaktoren für die verschiedenen Signale bestimmen (siehe Abbildung 6.10a,b). Dabei ergibt sich eine Verstärkung bis zu 95, wobei im Rahmen der Fehler alle Signale gleichmäßig verstärkt werden. Diese Verstärkung entspricht einer Zeiteinsparung von  $95^2=9025$  und ist vergleichbar mit der Verstärkung anderer Proben mit Papier als Trägermaterial. (siehe Kapitel 5)

Die Signale bei 103, 86, 81, 72 und 60 ppm können den Kohlenstoffen  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  der Cellulose zugeordnet werden.[170] Diese Signale erzeugen bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz Rotationsseitenbanden in den Bereichen von 29 bis -26 ppm und von 189 bis 133 ppm, wodurch die schwächeren Signale des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) überlagert werden und somit schwer zu identifizieren sind. Deshalb wurden die Spektren mit einem Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) in einer 15 mM AMUPol Lösung in  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) verglichen (siehe Abbildung 6.10c). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass das Signal bei 35 ppm dem Methylkohlenstoff 3 im Ring des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zugeordnet werden kann. Im Vergleich der Signalintensitäten der Spektren in Abbildung 6.10c für die 2:1, 1:1 und 0,5:1 Proben ist eine deutliche Abnahme zu erkennen. Für die 0,5:1 Probe mit einer Beladung von  $4\ \mu\text{mol/g}$  ist das Signal bei 35 ppm bereits schwer erkennbar. Das zeigt, dass hier das Limit der DNP verstärkten  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  MAS NMR für diese Proben erreicht ist. Dieses Limit liegt im mikromolaren Bereich.

Zusätzlich enthält die Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Funktionalisierung ein Stickstoffatom, welches mit DNP verstärkter  $^1\text{H}\rightarrow^{15}\text{N}$  CP MAS NMR detektierbar ist. Exemplarische Spektren werden in Abbildung 6.10d für die 2:1 Probe mit einer Beladung von  $102,5\ \mu\text{mol/g}$  und für das reine Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) gezeigt. In beiden Spektren ist nach einer Nachtmessung ein Signal bei 57 ppm zu beobachten. Dieser Wert ist typisch für Stickstoffe in Carbamaten. Da das Papiersubstrat sowie die Matrix keine weiteren Stickstoffatome enthalten, kann dieses Signal dem Stickstoff in Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zugeordnet werden. Außerdem zeigt die Detektion eines einzelnen Peaks, dass keine signifikanten Mengen der Kopplungsreagenzien (EDC·HCl) oder stickstoffhaltiger Lösemittel im Papiersubstrat nach der Funktionalisierung verblieben sind.

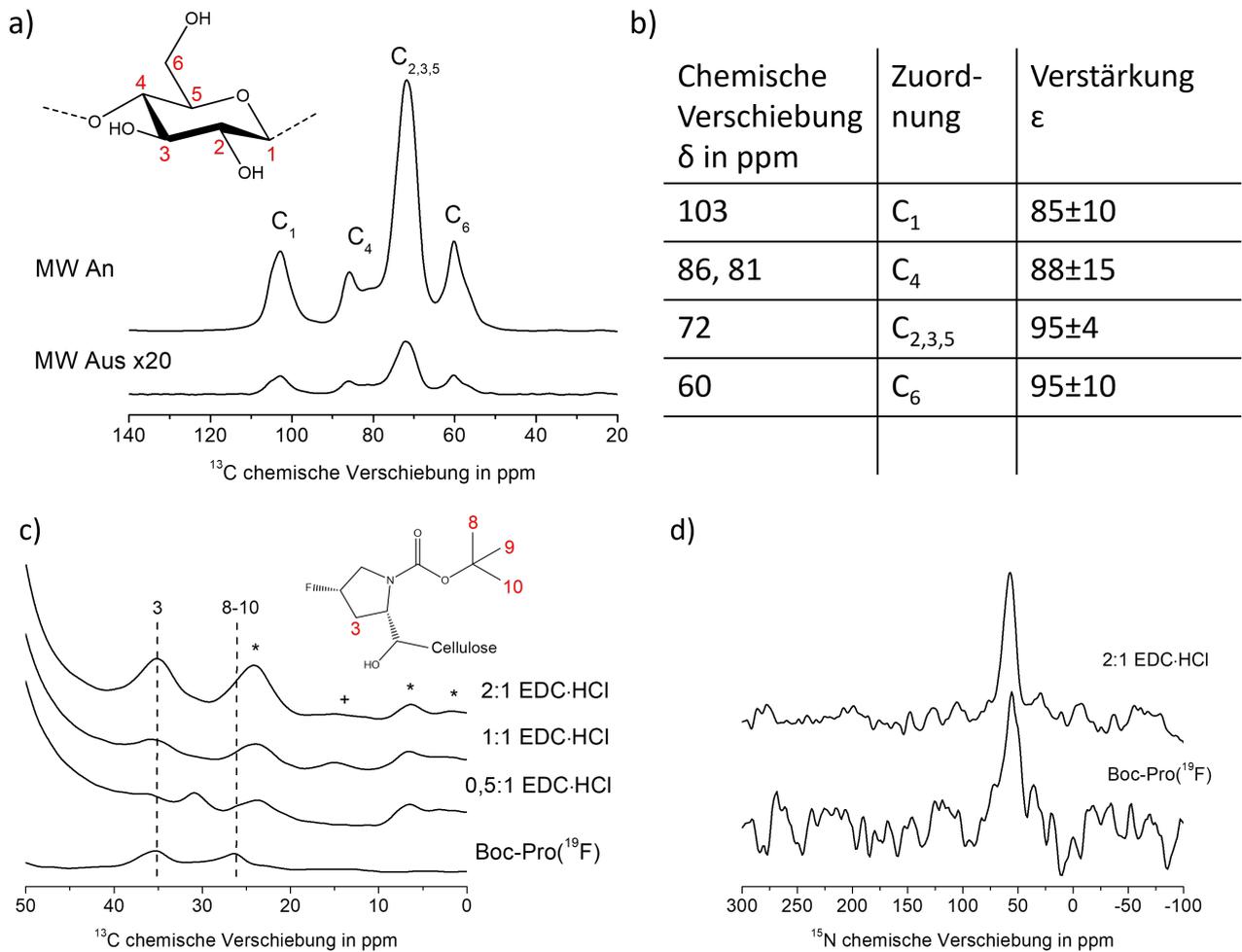


Abbildung 6.10: Festkörper DNP NMR Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisiertem Papier imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w). Die Spektren wurden bei 110 K aufgenommen. (a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren der 2:1 Probe mit EDC-HCl mit und ohne MW gemessen und Zuordnung der Cellulosesignale  $C_1$ - $C_6$ . (b) Verstärkungsfaktoren mit zugehörigem Fehler für die verschiedenen Kohlenstoffatome in der Cellulose. (c) Vergrößerung der Region von 50 bis 0 ppm der  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren gemessen mit MW für die Proben 2:1, 1:1 und 0,5:1 und Zuordnung der Kohlenstoffatome. Die Spektren in (c) wurden auf die Intensität des  $C_1$  Signals bei 103 ppm normiert. Der Peak bei etwa 25 ppm in Spektrum (c) zeigt eine Überlappung des Signals des Methylkohlenstoffes der Boc-Schutzgruppe mit den Rotationsseitenbanden des  $C_1$  Signals der Cellulose. Das Signal bei 31 ppm im Spektrum der 0,5:1 Probe mit EDC-HCl stammt vermutlich von einer Verunreinigung durch verbliebenes DMF in der Probe, was nicht durch die Waschvorgänge entfernt werden konnte. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Zusätzliche Signale, die mit einem Plus (+) markiert sind, gehören zu Verunreinigungen in der Probe, welche durch die DNP Verstärkung sichtbar werden. (d) DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS Spektren der 2:1 Probe mit EDC-HCl und der Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Referenzprobe. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

### DNP verstärkte $^{19}\text{F}$ MAS NMR

Für alle DNP verstärkten  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Experimente der funktionalisierten Papiere wurde eine 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) als Polarisationsquelle verwendet. In Abbildung 6.11a sind die  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren mit und ohne MW für die 4:1 EDC·HCl Probe dargestellt. Im Spektrum mit MW sind zwei isotrope Signale bei -175 ppm mit einer hohen Intensität und bei -75,5 ppm mit einer geringeren Intensität zu sehen. Der Vergleich mit dem Standard  $^{19}\text{F}$  Spektrum in Abbildung 6.11 zeigt, dass das Signal bei -175 ppm dem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zugeordnet werden kann. Dieses Signal ist um etwa 5 ppm (siehe Anhang Abbildung 6.38) im Vergleich zum Signal des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) im Standard  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektrum verschoben. Diese Verschiebung wird vermutlich durch das Lösungsmittel hervorgerufen, welches in der Präparation der DNP Proben verwendet wurde. Das Signal bei -75,5 ppm ist einer Verunreinigung zuzuordnen.

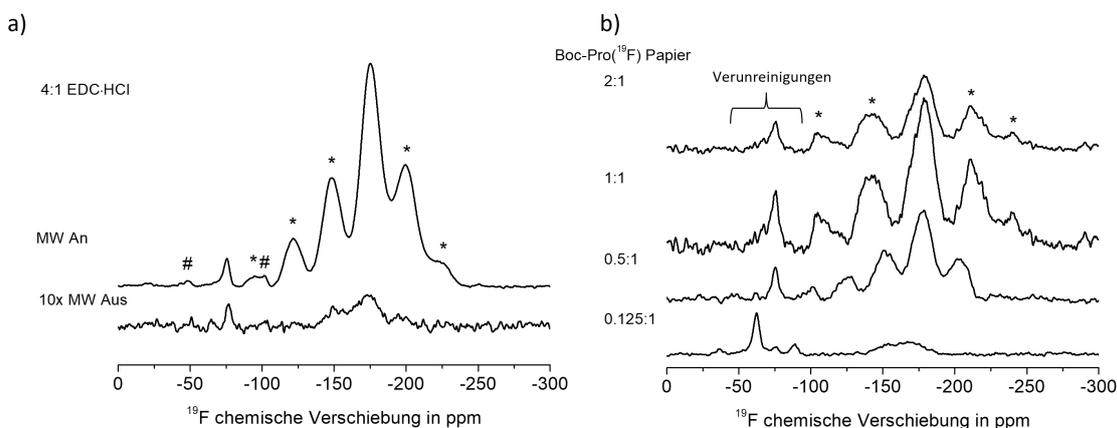


Abbildung 6.11: Festkörper DNP Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papiermaterialien imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w). Die Spektren wurden bei 110 K aufgenommen. (a)  $^{19}\text{F}$  MAS Spektren aufgenommen mit und ohne MW der 4:1 Probe. (b) DNP verstärkte  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren der Proben 2:1, 1:1, 0,5:1 und 0,125:1 aufgenommen mit MW. Die Spektren wurden auf einen Scan normiert. Sternchen (\*) und Rauten (#) zeigen jeweils die Rotationsseitenbanden des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und einer Verunreinigung an. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

Durch den Vergleich der Spektren mit und ohne MW in Abbildung 6.11a ergibt sich ein Verstärkungsfaktor von  $\epsilon = 102 \pm 39$  für das Signal bei -175 ppm, was einer Zeitersparnis in der Größenordnung  $10^4$  entspricht. Der große Fehler ist auf das hohe Rauschlevel im Spektrum ohne MW zurückzuführen. Für die 2:1, 1:1, 0,5:1 und 0,125:1 Probe wurden aus Zeitgründen lediglich Spektren mit MW gemessen, welche in Abbildung 6.11b zu sehen sind. Vorherige Arbeiten[171] haben jedoch gezeigt, dass die Verstärkung in  $^{19}\text{F}$  MAS DNP Spektren von der Konzentration des Fluors in der Probe abhängt und für geringere Konzentrationen größer wird. Somit kann angenommen werden, dass die Verstärkungsfaktoren für die geringeren Beladungen größer als 100 sind. Das könnte erklären, weshalb für die 2:1 Probe ein kleineres Signal im Vergleich zur 1:1 Probe in Abbildung 6.11b zu beobachten ist. Zusätzlich hat die Menge der Probe im Rotor einen Einfluss auf die Signalintensität in den DNP verstärkten  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren.

Vergleicht man die DNP verstärkten  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren der 2:1, 1:1, 0,5:1 und 0,125:1 Proben in Abbildung 6.11b ist zu sehen, dass die 0,125:1 Probe ein breites Signal im Bereich von -130 bis -200 ppm zeigt. Dieses Signal stammt nicht von einem Hintergrundsignal, was durch eine Referenzmessung (nicht gezeigt)

---

bestätigt wurde. Es kann angenommen werden, dass dieses Signal ebenfalls von Boc-Pro(<sup>19</sup>F) stammt, wenn auch mit geringer Auflösung. Aus dieser Beobachtung lässt sich schlussfolgern, dass Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Funktionalisierungen auf Papier bis zu einer Beladung von 1 µmol/g und möglicherweise darunter mit dem hier beschriebenen und entwickelten <sup>19</sup>F MAS DNP NMR Ansatz gemessen werden können.

### 6.3.3 Fazit

In diesem Kapitel wurde ein effizienter Ansatz gezeigt, um ein <sup>19</sup>F Spinlabel an Papier anzubinden. Unter Verwendung von *N*-*boc-cis*-4-fluoro-L-Prolin als Probenmolekül und EDC·HCl+DMAP als Kopplungsreagenz konnte das Molekül auf ein Baumwollfaserbasiertes Papier erfolgreich aufgepfropft werden. Standard <sup>19</sup>F MAS wurde als Werkzeug verwendet, um die Funktionalisierungsmengen des *N*-*boc-cis*-4-fluoro-L-Prolin auf Papier bis zu 4 µmol/g zu bestimmen. Unter Verwendung von <sup>1</sup>H→<sup>19</sup>F CP MAS FSLG HETCOR Experimenten konnte der Erhalt der Struktur des Spinlabels bestätigt werden. Um die Sensitivität zu erhöhen wurde die Festkörper NMR mit DNP kombiniert, was eine Detektion von <sup>13</sup>C in natürlicher Häufigkeit bis zu einer Beladung von 4 µmol/g und für <sup>15</sup>N bis zu einer Beladung von 100 µmol/g erlaubte. Durch Einführung der <sup>19</sup>F MAS DNP Experimente konnte eine Beladung von 1 µmol/g detektiert werden.

## 6.4 Peptidfunktionalisierung auf MCC

Für Biosensoren spielen Peptide oder Proteine auf Cellulosematerialien eine wichtige Rolle. So wurden diese in der Vergangenheit für einen Desoxyribonukleinsäure (DNA) Sensor,[172] in der Hartgewebetechnik [173] oder bei der Vororttestung von essentiellen Proteinen im menschlichen Serum[174] verwendet. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind jedoch nur wenige Arbeiten veröffentlicht, welche kovalent an Cellulosematerialien angebundene Peptide oder Biomoleküle untersuchen. Dabei fehlt es speziell an Studien, die die Anbindung auf molekularem Level untersuchen.[175–183] Aufgrund dessen werden im folgenden Kapitel die bereits für die Untersuchung der Anbindung von Aminosäuren auf Cellulosebasierten Materialien optimierten Festkörper NMR Techniken auf peptidfunktionalisierte Cellulosematerialien angewendet. Als Modellsystem wird das Tetrapeptid Acetyl-Pro-Ala-Phe-Gly-OH (Peptid 1) über die Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) synthetisiert und auf MCC als Trägermaterial angebonden. Für die Quantifizierung des Peptides auf MCC wird das Prolin (Pro) in der Sequenz durch  $^{19}\text{F}$ -Prolin (Pro( $^{19}\text{F}$ )) ersetzt (Acetyl-Pro( $^{19}\text{F}$ )-Ala-Phe-Gly-OH (Peptid 2)). Um die Anbindung des Peptides zu untersuchen, wird das Glycin in der Sequenz durch  $^{13}\text{C}$  gelabeltes Glycin ersetzt (Acetyl-Pro-Ala-Phe-Gly( $^{13}\text{C}$ )-OH (Peptid 3)).

### 6.4.1 Methoden

#### Allgemein

Die Synthese der Peptide und die Anbindung dieser auf MCC wurden von Waranya Limprasart und Lorenz Rösler durchgeführt. Die Details zu den Synthesen sind in der Veröffentlichung (Publikationsliste [3]) zu finden und werden im folgenden nicht beschrieben.

Tabelle 6.3: Liste der Probenbezeichnungen und Kurzbeschreibung

Probenbezeichnung	DNP Matrix	Abbildungen
Peptid 1	Keine	6.14b
Peptid 2 auf MCC	Keine	6.13
Peptid 1 auf MCC	15 mM AMUPol Lösung in $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w)	6.14a,b
Peptid 3 angebonden an MCC	15 mM AMUPol Lösung in $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w)	6.15a, 6.16, 6.17, 6.18b, 6.19
Physikalische Mischung Peptid 3 mit MCC	15 mM AMUPol Lösung in $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w)	6.15b, 6.18a, 6.20

#### Festkörper NMR Experimente

Alle Standard 1D Festkörper NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 600 MHz Spektrometer mit einem Magnetfeld von 14,1 T gemessen, was einer Frequenz von 600,12 MHz, 564,60 MHz und 150,92 MHz für  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  und  $^{13}\text{C}$  entspricht. Um  $^{19}\text{F}$  MAS Spektren aufnehmen zu können wurde ein 3,2 mm  $^1\text{H}/\text{X}/\text{Y}$  Tripelresonanz Probenkopf umgebaut, sodass  $^{19}\text{F}$  auf dem  $^1\text{H}$  Kanal gemessen werden konnte. Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 18 kHz gemessen. Zur Anregung wurde ein  $\pi/2$  Puls mit einer Länge von 3,6  $\mu\text{s}$  verwendet. Um quantitative Spektren zu garantieren, wurde eine Wiederholzeit von 20 s gewählt, was  $>3 \cdot T_1$  ist. Die Anzahl der Scans wurde auf 128 gesetzt. TFMPCA wurde als interner Standard

---

für die Quantifizierung verwendet. Die Spektren wurden auf  $\text{CFCl}_3$  (0 ppm) unter Verwendung von  $\text{BaF}_2$  (-14,4 ppm) als externer Standard referenziert.

Die  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren des Peptides wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. Ein  $\pi/2$  Anregungspuls von 2,3  $\mu\text{s}$  wurde auf  $^1\text{H}$  eingestrahlt. Das Spektrum wurde mit einer Kontaktzeit von 2 ms und einer linearen 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal während des Kontaktes aufgenommen. Die Wiederholzeit wurde auf 2 s und die Akquisitionszeit auf 26 ms gesetzt. Das Spektrum wurde mit 1024 Scans aufgenommen. Während der Datenaufnahme wurde eine TPPM[95] Entkopplung mit einer Nutationsfrequenz von ca. 100 kHz vorgenommen. Das Spektrum wurde auf TMS (0 ppm) mit Adamantan (38,5 ppm) als externen Standard referenziert. Für die Signalzuordnung wurde die ACD Labs Software genutzt um das Spektrum vorherzusagen.

### DNP verstärkte Festkörper NMR Experimente

Für alle DNP Proben wurden 12 mg der Probe mit 12  $\mu\text{l}$  der Radikallösung einer 15 mM AMUPol Lösung in  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) imprägniert.

Alle Festkörper DNP NMR Spektren wurden an einem Bruker Avance III 400 DNP Spektrometer mit einem Magnetfeld von 9,4 T aufgenommen, was einer Frequenz von 401,63 MHz für  $^1\text{H}$  und 101,01 MHz für  $^{13}\text{C}$  entspricht. Das Spektrometer ist mit einem 3,2 mm Tieftemperatur H/X/Y Tripelresonanz Probenkopf ausgestattet, welcher in der Konfiguration  $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  verwendet wurde, und einem 9,7 T Bruker Gyrotronsystem, welches MW mit einer Frequenz von 263 GHz erzeugt.

$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bzw. 10,949 kHz aufgenommen. Die Pulslänge des  $\pi/2$  Anregungspuls wurde auf 3  $\mu\text{s}$  gesetzt. Für die Kontaktzeit von 2 ms wurde eine lineare 100-50 Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal verwendet. Die Wiederholzeit wurde auf 3,4 s gesetzt, was  $1,3 \cdot T_B$  entspricht. Während der Akquisitionszeit von 30 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] mit einer Nutationsfrequenz von ca. 80 kHz angewendet. Jedes Spektrum wurde mit 1024 Scans gemessen und auf TSP (0 ppm) referenziert.

2D homonukleare  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  Korrelationsexperimente wurden mit der DARR Pulssequenz (Kapitel 3.2.3) aufgenommen. Die Parameter für die CP wurden aus dem  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experiment übernommen. Für die Wiedereinkopplung wurde CW verwendet mit einem  $B_1$  Feld mit einer Nutationsfrequenz von 8 kHz auf dem  $^1\text{H}$  Kanal. Die  $\pi/2$  Pulslänge auf dem  $^{13}\text{C}$  Kanal wurde auf 4  $\mu\text{s}$  gesetzt. Die Spektren wurden mit 64 Scans und 832 Slices aufgenommen. Während der Akquisitionszeit von 25 ms wurde eine spinal64 Entkopplung[118] mit einer Nutationsfrequenz von ca. 80 kHz angewendet. Die direkte und indirekte Dimension wurden auf TSP (0 ppm) referenziert.

Das  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP DQrotreson Spektrum wurde mit der Pulssequenz, beschrieben in Kapitel 3.2.3, gemessen. Die Parameter für die Kontaktzeit, Wiederholzeit und Akquisitionszeit wurden aus dem  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Experiment übernommen. Eine  $\pi/2$  Pulslänge von 4  $\mu\text{s}$ , eine  $\pi/4$  Pulslänge von 2  $\mu\text{s}$  und ein Anregungsintervall ( $\tau_{exc}$ ) von 0,5 ms wurden für den  $^{13}\text{C}$  Kanal verwendet. Die Anregung wurde auf der Frequenz des C=O Signals (171 ppm) durchgeführt und das  $\text{C}_6$  Signal der Cellulose (62,5 ppm) wurde mit einer MAS Frequenz von 10,949 kHz in Rotationsresonanz gesetzt. Das  $\text{C}_6$  Signal wurde in Rotationsresonanz gesetzt, da angenommen werden kann, dass die Peptidfunktionalisierung regioselektiv[184] ist und somit hauptsächlich am  $\text{C}_6$  stattfindet. Das Spektrum wurde mit 2048 Scans aufgenommen und auf TSP (0 ppm) referenziert.

Um Verstärkungsfaktoren der DNP verstärkten NMR Spektren berechnen zu können, wurde die gleiche Probe mit und ohne MW gemessen. Der Verstärkungsfaktor wurde berechnet, indem die Peakmaxima auf den gleichen Wert skaliert wurden. Der Fehler wurde abgeschätzt, indem der prozentuale Fehler des Rauschlevels für beide Spektren aufsummiert wurden.

## 6.4.2 Ergebnisse und Diskussion

### Peptid 1 als Modell für Biofunktionalisierungen auf MCC als Trägermaterial

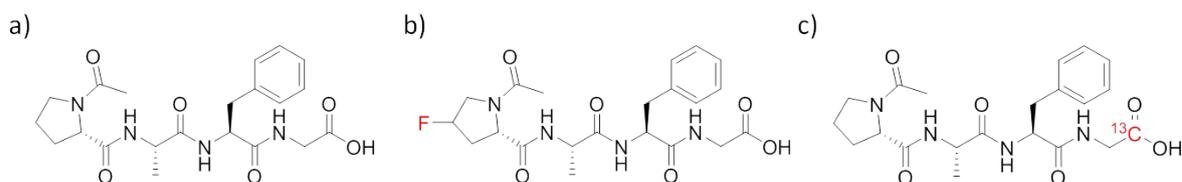


Abbildung 6.12: Strukturen von a) Peptid 1, b) Peptid 2 und c) Peptid 3. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Abbildung 6.12 zeigt die chemische Struktur von Peptid 1, welches als Modell für eine Biofunktionalisierung auf MCC dient. Die Basisstruktur besteht aus der Peptidsequenz Pro-Ala-Phe-Gly in welcher der N-Terminus mit einer Acetylgruppe geschützt ist und die freie Carboxylgruppe die Anbindung an MCC ermöglicht. Die Synthese folgt der SPPS Route, [185] welche das Koppeln von Aminosäuren ermöglicht. Für Peptid 1 ergab sich eine Ausbeute von 64% mit Electrospray Ionisation (ESI)-Mass Spectrometry (MS):  $m/z = [M+H]^+$  433,2 und 98% Reinheit (High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) @ 254 nm,  $t_R = 16,79$  min). Die gute Ausbeute und hohe Reinheit zeigt, dass der SPPS Ansatz für die Herstellung des Peptides gut geeignet ist.

Im nächsten Schritt wird das Peptid auf MCC unter Verwendung des Syntheseprotokolls, beschrieben in Kapitel 6.2.1, angebunden. Dieser Ansatz folgt einer Steglich Esterifizierung [186], welche die Reaktion der sterisch anspruchsvollen Alkoholgruppe in der Cellulose mit der terminalen Carboxylgruppe des Peptides prinzipiell erlaubt. Mit dieser Anbindungsstrategie des Peptides auf der Cellulose ergeben sich folgende Fragen: (i) Welche Menge des Peptides ist auf dem MCC-Substrat angebunden, und (ii) ist das Peptid kovalent an das MCC-Substrat angebunden.

Um diese Fragen zu beantworten ist es notwendig das Peptid leicht zu modifizieren, um eine breite Palette an Festkörper NMR Analytik verwenden zu können. Die Details sind in den folgenden Abschnitten dargelegt.

### Peptid 2 als Spinlabel für die Quantifizierung des Peptides auf MCC

Wie in den vorangegangenen Unterkapiteln gezeigt wurde, können unter Verwendung von  $^{19}\text{F}$  MAS NMR der Fluorgehalt von Aminosäuren, angebunden auf Papieren bestimmt werden. Darüber hinaus wurde die Methode zum Analysieren des Fluorgehalts in anderen Arbeiten bereits erfolgreich gezeigt, wie zum Beispiel für flourhaltige Katalysatoren auf Silica, [187] oder in Metallorganischen Frameworks (MOFs) [188, 189]. Da das Modellpeptid Peptid 1 kein  $^{19}\text{F}$  enthält wurde das Pro in der Sequenz durch ein Pro( $^{19}\text{F}$ ) ersetzt, um Peptid 2 zu erhalten. Die Ausbeute dieses Peptides bei der Synthese war 77% mit ESI-MS:  $m/z = [M+H]^+$  451,2 und 98% Reinheit (HPLC @ 254 nm,  $t_R = 16,79$  min) was im Vergleich zum Peptid 1

einer höheren Ausbeute entspricht. Dies zeigt deutlich, dass der SPPS Ansatz effizient auch für Systeme mit einem  $^{19}\text{F}$  Spinlabel angewendet werden kann. Das erhaltene Peptid 2 wurde ebenfalls auf MCC mit einer Steglich Esterifizierung angebunden.

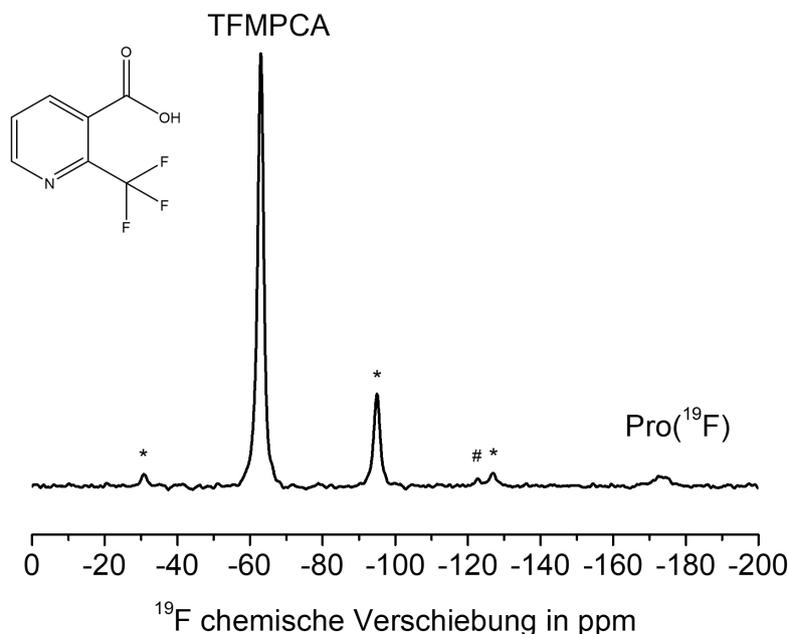


Abbildung 6.13:  $^{19}\text{F}$  MAS Spektrum von Peptid 2 angebunden auf MCC. Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA wurden mit Sternchen (\*) markiert. Das Signal, welches mit einer Raute (#) markiert wurde, stammt von einer Verunreinigung. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Die Struktur des internen Standards TFMPCA ist im Spektrum gezeigt. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

In Abbildung 6.13 ist das  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektrum von Peptid 2 angebunden auf MCC gezeigt. Das Spektrum zeigt isotrope Signale bei -173 ppm und -63 ppm. Das Signal bei -173 ppm kann dem Fluor in Pro( $^{19}\text{F}$ ) in Peptid 2 und das Signal bei -63 ppm dem internen Standard TFMPCA zugeordnet werden. Mit diesem Spektrum kann eine Beladung von  $45,8 \pm 3,2 \mu\text{mol/g}$  für die Peptid 2 auf MCC berechnet werden (Details sind im Anhang und im vorherigen Kapitel beschrieben). Diese geringe Beladung zeigt, dass für eine detailliertere Analyse des Peptides auf MCC mit 1D und 2D  $^{13}\text{C}$  Festkörper NMR die Sensitivität weiter gesteigert werden muss. Diese Steigerung kann durch Verwendung von DNP NMR und/oder Isotopenmarkierung erreicht werden, wie im nächsten Abschnitt beschrieben wird.

## Charakterisierung von Peptid 1 angebunden auf MCC mit Festkörper NMR und DNP

$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR und DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR

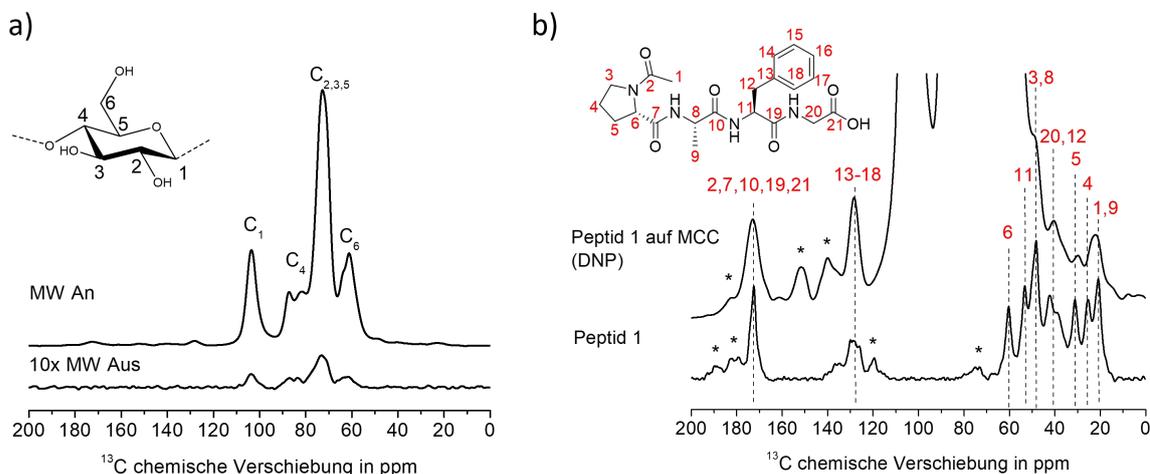


Abbildung 6.14: a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektren von Peptid 1 angebunden auf MCC gemessen mit und ohne MW. b)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum von reinem Peptid 1, vergrößerte Darstellung des  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DNP Spektrums von Peptid 1 angebunden auf MCC und Signalzuordnung. Rotationsseitenbanden wurden mit einem Sternchen (\*) markiert. Für die DNP Probenpräparation wurde eine 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix verwendet. Alle Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. DNP Spektren wurden bei einem Feld von 9,4 T und das Festkörper NMR Spektrum bei einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Die Signalzuordnung wurde mit der Vorhersage der  $^{13}\text{C}$  chemischen Verschiebung der ACDLabs Software durchgeführt. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Um zu bestätigen, dass das Peptid 1 auf MCC vorhanden ist wird das Festkörper NMR Spektrum des reinen Peptides mit dem Peptid 1 nach der Anbindung auf MCC verglichen. Da der Anteil des Peptides auf dem Trägermaterial gering ist, ist es notwendig das Spektrum mit Festkörper DNP aufzunehmen. Durch Vergleichen der Spektren in Abbildung 6.14a kann eine Verstärkung von  $82 \pm 12$  für die  $^{13}\text{C}$  Signale bestimmt werden, was einer Zeiteinsparung von etwa 6400 entspricht. In Abbildung 6.14b sind das  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum von reinem Peptid 1 und das DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum von Peptid 1 angebunden auf MCC dargestellt. Die Signale im Bereich von 52 bis 110 ppm im Spektrum von Peptid 1 angebunden auf MCC können den Kohlenstoffen  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  des MCC zugeordnet werden (Abbildung 6.14a). Somit sind im Bereich von 10 bis 70 ppm, 110 bis 140 ppm sowie 160 bis 190 ppm lediglich einige der Signale, die vom Peptid stammen, sichtbar, während die anderen von Signalen und Rotationsseitenbanden der Kohlenstoffe  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  des MCC überlagert werden. Wie durch die gestrichelten Linien angedeutet, sind die Signale des Peptides bei ähnlichen chemischen Verschiebungen in beiden Spektren sichtbar. Das bestätigt, dass das Peptid nach der Anbindung auf MCC weiterhin intakt ist.

Die Signale des Peptides sind im DNP verstärkten Festkörper NMR Spektrum im Vergleich zum Festkörper NMR Spektrum verbreitert. Diese Verbreiterung kann durch die Matrix für die Probenpräparation, die tiefen Temperaturen bei denen die Experimente durchgeführt wurden und/oder die Wechselwirkung des Peptides mit dem MCC verursacht werden. Dieses Phänomen wurde bereits von anderen Gruppen beobachtet, die DNP Untersuchungen an biobasierten Feststoffen durchgeführt haben.[190–193]

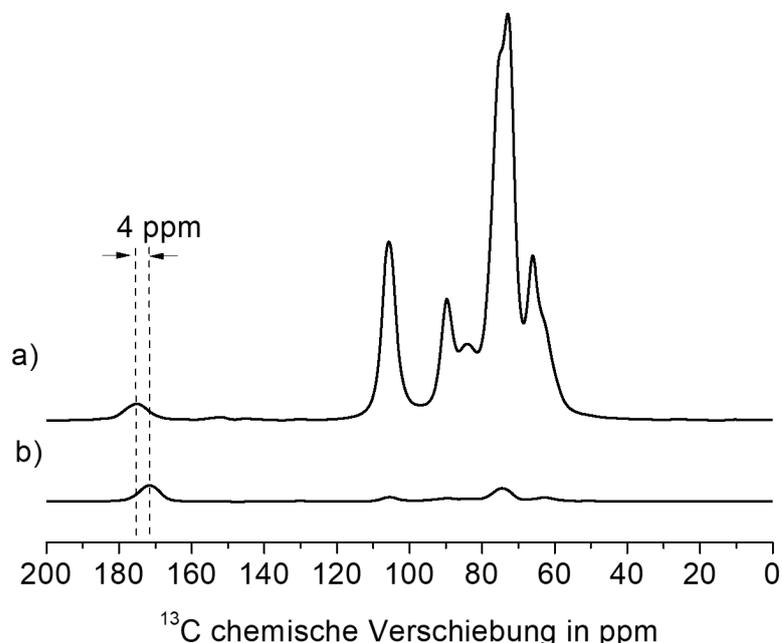


Abbildung 6.15: DNP verstärkte  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von a) Peptid 3 chemisch angebundenes an MCC und b) physikalische Mischung von Peptid 3 mit MCC. Die Spektren wurden für eine leichtere Vergleichbarkeit auf die Intensität des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signals normiert. Die Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Während  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Experimente, wie sie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben wurden, es ermöglichen die funktionellen Gruppen in der Peptidsequenz zu identifizieren und die Unversehrtheit des Peptides nach der Anbindung auf MCC nachzuweisen, adressieren sie nicht die räumliche Nähe des Peptides zur Cellulose, welche für eine kovalente Bindung notwendig ist. Hier ist es erforderlich Festkörper NMR Experimente anzuwenden, welche es erlauben die dipolare Wechselwirkung zwischen den Kohlestoffen der Cellulose und der terminalen Carboxylgruppe des Peptides zu beobachten. Durch den geringen Anteil des Peptides, sowie der Überlagerung des Signals mit anderen Carboxylgruppen im Peptid ist es notwendig das Peptid mit einem  $^{13}\text{C}$  Isotopenlabel zu versehen. Aus diesem Grund wurde Peptid 3 synthetisiert. Für die Synthese dieses Peptides wurde eine Aubeute von 83% mit ESI-MS:  $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+ 434,2$  und 98% Reinheit (HPLC @ 214 nm,  $t_R=16,83$  min) erhalten. Dieses Peptid wurde ebenfalls mit einer Steglich Esterifizierung an MCC angebundenes.

Abbildung 6.15 zeigt den Vergleich zwischen den DNP verstärkten  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren einer physikalischen Mischung von Peptid 3 mit MCC und Peptid 3 chemisch angebundenes an MCC. Die Verschiebung von 4 ppm (von 175 zu 171 ppm) für das Carbonylsignal zeigt klar, dass eine chemische Reaktion zwischen Peptid 3 und MCC stattgefunden hat.

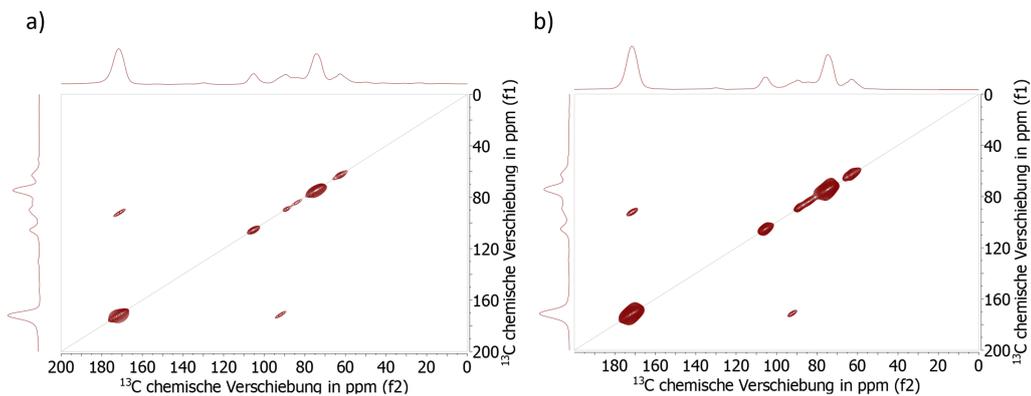


Abbildung 6.16: DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren von Peptid 3 angebunden an MCC mit einer Mischzeit von a) 50 ms und b) 500 ms. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix präpariert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

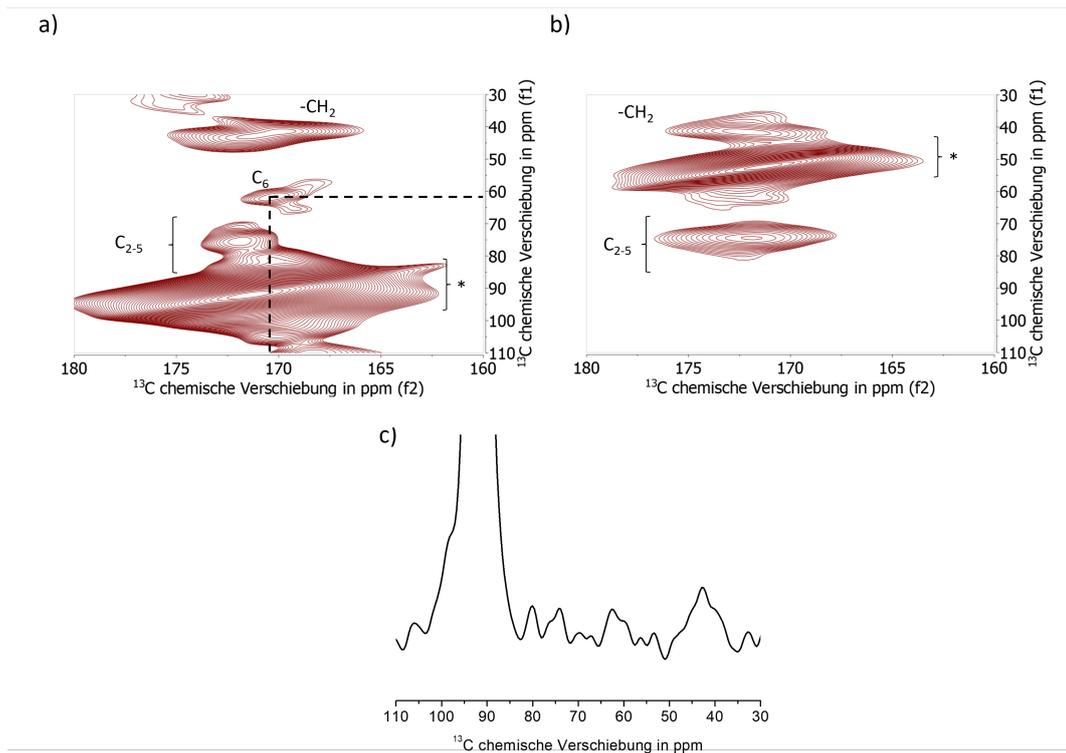


Abbildung 6.17: Vergrößerung der DNP verstärkten  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren von Peptid 3, chemisch angebunden an MCC, gemessen mit einer Mischzeit von 500 ms und einer Rotationsfrequenz von a) 8 kHz und b) 12 kHz. c) Extrahierte Zeile bei 171 ppm von Spektrum a) um den Rauschlevel abschätzen zu können. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Einen ersten Hinweis auf die räumliche Nähe des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Kohlenstoffes des Peptides und den Kohlenstoffen in der MCC liefern DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Experimente. Diese Experimente erlauben räumlich gekoppelte Kohlenstoffatome über Kreuzpeaks zu identifizieren. In Abhängigkeit der gewählten Mischzeiten in der Pulssequenz (Abbildung 3.5) ist es möglich zwischen kurz- und langreichweitigen Korrelationen zu unterscheiden. Die Spektren mit einer Mischzeit von 50 ms und 500 ms für Peptid 3 chemisch angebunden an MCC sind in Abbildung 6.16a, 6.16b gezeigt. Auf der Hauptdiagonalen in den Spektren sind die Selbstkorrelationen, sowie die Peaks der Rotationsseitenbanden gut sichtbar. Für eine genauere Analyse ist eine Vergrößerung des DNP verstärkten  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektrums notwendig.

Abbildung 6.17 zeigt die Vergrößerung der  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren aufgenommen mit einer Mischzeit von 500 ms mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bzw. 12 kHz, in denen mehrere Korrelationspeaks sichtbar sind. Hervorzuheben ist das Signal bei 171 ppm (f2 Dimension) und 62,5 ppm (f1 Dimension), welches eine räumliche Nähe der terminalen  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Gruppe des Peptides mit dem Kohlenstoff C<sub>6</sub> des MCC zeigt. Zusätzlich sind kleine Korrelationen bei (169 ppm, 67 ppm) und (169 ppm, 57 ppm) sichtbar. Diese können der räumlichen Korrelation zwischen benachbarten Kohlenstoffen (C<sub>19</sub>-C<sub>11</sub> und C<sub>7</sub>-C<sub>6</sub>) im Peptid zugeordnet werden. Diese Interpretation wird durch die  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren der physikalischen Mischung des Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w) und von Peptid 3 auf MCC mit einer Mischzeit von 50 ms (siehe Abbildung 6.18) unterstützt, in welchen die Korrelationen ebenfalls sichtbar sind.

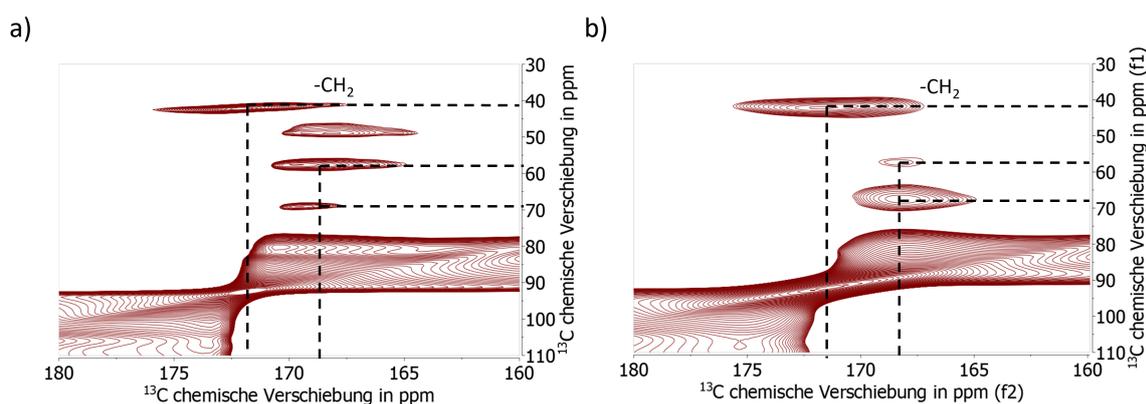


Abbildung 6.18: DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren a) der physikalischen Mischung des Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w) und b) des Peptid 3 angebunden an MCC mit einer Mischzeit von 50 ms. Die Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

In Abbildung 6.17 ist zusätzlich eine Korrelation des Signals bei 172 ppm (f2 Dimension) zu den Signalen zwischen 70 und 85 ppm zu sehen, welche jedoch nicht eindeutig aufgelöst sind. Diese Korrelation zeigt die Nähe des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  des Peptides zu den Kohlenstoffen C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> Signalen der Cellulose. Dabei kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei dem Peak um eine Korrelation innerhalb des Peptides handelt, da keine isotropen Signale im Bereich von 70 bis 85 ppm auftreten (Vergleiche Abbildung 6.14). Der geringe chemische Verschiebungsunterschied von 172 zu 171 ppm in der f1 Dimension für die oben diskutierten Signale ist auf die ungeordnete Struktur der MCC zurückzuführen. Eine Korrelation zwischen dem  $^{13}\text{C}=\text{O}$  des Peptides und dem C<sub>1</sub> der Cellulose ist nicht sichtbar. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die relativ große Distanz zwischen diesen beiden Kernen.

Zuletzt ist in allen aufgenommenen  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren eine starke Korrelation bei (171-169 ppm,

42 ppm) zu sehen. Diese Korrelation ist der räumlichen Nähe der  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Gruppe zur  $\text{CH}_2$  Gruppe des Glycins zuzuordnen.

Um die Stärke der dipolaren Wechselwirkung, und somit eine Distanz zwischen den Kohlenstoffatomen abschätzen zu können, wurden DQrotreson Experimente durchgeführt (siehe Kapitel 3.4).[42–45] Bei diesen Experimenten wird die dipolare Kopplung zweier  $^{13}\text{C}$  Kerne durch die Rotationsfrequenz wieder eingekoppelt, sodass diese bestimmt werden kann. Da im untersuchten System mehrere Spins vorhanden sind, ist es hilfreich die dipolaren Kopplungen über einen Doppelquanten Filter zu selektieren. Hierbei ist der Parameter des Anregungsintervalls  $\tau_{exc}$  entscheidend. Die Pulsfolge, sowie weitere Details sind in Kapitel 3.4 zu finden.

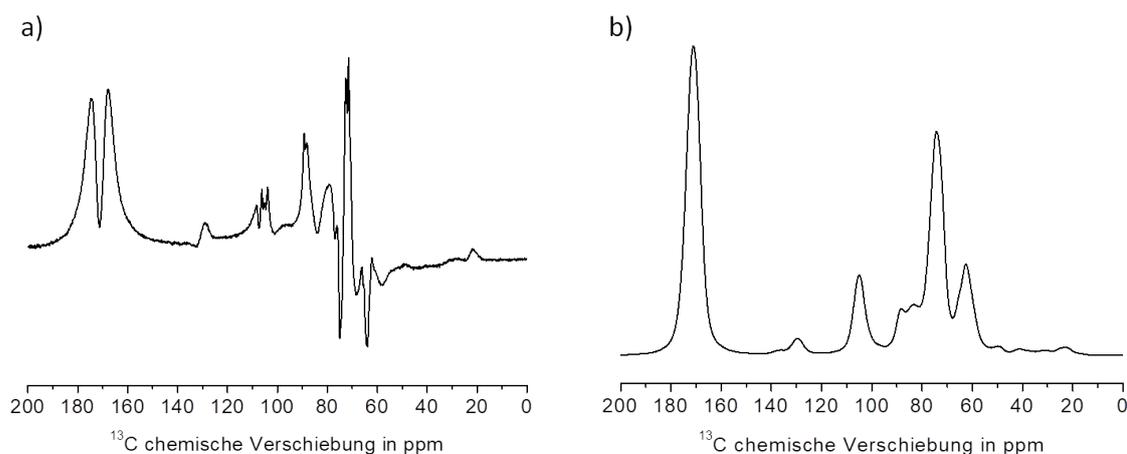


Abbildung 6.19: a) DNP verstärktes  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum und b) DNP verstärktes  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum von Peptid 3 angebunden an MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10,949 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Das DNP verstärkte  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum ist in Abbildung 6.19a gezeigt. Zur besseren Vergleichbarkeit ist das DNP verstärkte  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum in Abbildung 6.19b gezeigt. Das Signal des  $^{13}\text{C}$  markierten Kohlenstoffes im Peptid ist bei 171 ppm im Spektrum zu finden, während das Signal des  $\text{C}_6$  der Cellulose bei 62,5 ppm zu sehen ist. Durch die dipolare Kopplung und die gewählte Rotationsresonanzbedingung im DQrotreson Experiment ist das Signal bei 171 ppm in zwei Peaks aufgespalten, deren Maxima 806 Hz voneinander separiert sind (Abbildung 6.19a). Das Signal bei 62,5 ppm zeigt ebenfalls eine Aufspaltung, jedoch mit einer invertierten Phase, was die dipolare Kopplung des terminalen  $^{13}\text{C}=\text{O}$  mit dem  $\text{C}_6$  der Cellulose bestätigt. In erster Näherung lässt sich die Aufspaltung des Signals bei 171 ppm mit der Formel 3.19 in eine dipolare Kopplungskonstante von 2746 Hz umrechnen. Diese entspricht einem C-C Abstand von 2,6 Å. Der Fehler kann durch die Linienbreite der individuellen Peaks (216 Hz) abgeschätzt werden, was einer Distanz von 0,3 Å entspricht.

Der berechnete Abstand von 2,6 Å ist dabei geringer als ein typischer Wert für zwei C-O Bindungslängen ( $2 \cdot 1,43 \text{ \AA} \approx 2,85 \text{ \AA}$ ). Unter Berücksichtigung des Fehlers von 0,3 Å entspricht dieser Wert aber sehr gut dem C-C Abstand einer Esterbindung ( $\approx 2,37 \text{ \AA}$ ) bei Raumtemperatur. Die C-O-C Bindungslänge wurde

dabei mittels des Kosinussatzes und einem Bindungswinkel von  $112^\circ$

$$c = \sqrt{(1,43 \text{ \AA})^2 + (1,43 \text{ \AA})^2 - 2 \cdot (1,43 \text{ \AA}) \cdot (1,43 \text{ \AA}) \cdot \cos 112^\circ} \approx 2,37 \text{ \AA} \quad (6.2)$$

berechnet. Dieses Ergebnis deutet stark auf die Bildung einer Esterbindung zwischen der Carboxylgruppe des Peptides und dem  $C_6$  des MCC hin.

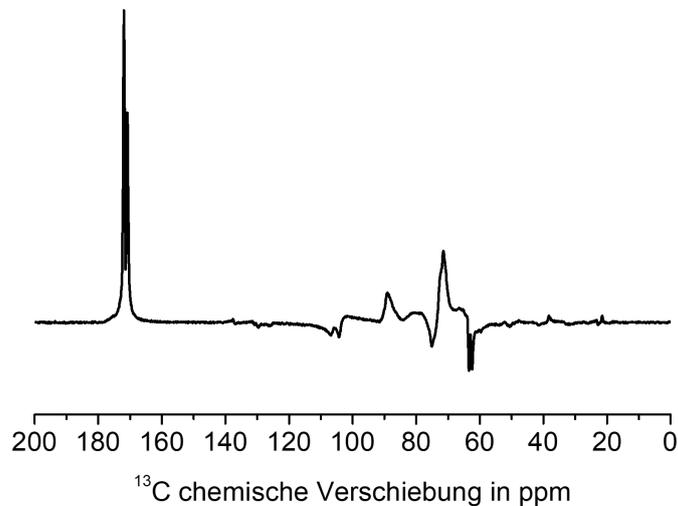


Abbildung 6.20: DNP verstärktes  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum der physikalischen Mischung von Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w). Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol  $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 10,949 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)

Im Vergleich dazu ergibt sich für das  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Spektrum (Abbildung 6.20) der physikalischen Mischung des Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w) eine deutlich geringere Aufspaltung des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signals von 100 Hz. Diese Aufspaltung entspricht einer Distanz von etwa  $4,7 \text{ \AA}$ . Dies deutet klar darauf hin, dass in der physikalischen Mischung von Peptid 3 mit MCC das Peptid nicht kovalent an das MCC angebunden ist.

### 6.4.3 Fazit

Die kurze Peptidsequenz Peptid 1 wurde erfolgreich über SPPS synthetisiert und mit einem nasschemischen Ansatz an MCC angebunden. Eine Quantifizierung des Peptides auf MCC wurde mit  $^{19}\text{F}$  MAS NMR an einem zweiten Modellsystem durchgeführt, in dem Pro durch Pro( $^{19}\text{F}$ ) ersetzt wurde. Unter Verwendung von DNP verstärkter  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS NMR konnte die Stabilität des Peptides während der Reaktion mit MCC bestätigt werden. Für die Analyse der Bindung des Peptides wurde Glycin (Gly) durch  $^{13}\text{C}$  markiertes Gly in der Peptidsequenz ersetzt. DNP verstärkte  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  DARR Spektren konnten die räumliche Nähe zwischen dem terminalen Kohlenstoff  $^{13}\text{C}=\text{O}$  im Modellpeptid und dem MCC Trägermaterial zeigen. Die

---

Stärke der dipolaren Kopplung wurde mit DNP verstärkten  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS DQrotreson Experimenten untersucht. Aus der Aufspaltung des  $^{13}\text{C}=\text{O}$  Signals konnte ein C-C Abstand zwischen dem  $\text{C}_6$  der Cellulose und dem  $^{13}\text{C}=\text{O}$  des Peptides von etwa  $2,6 \text{ \AA}$  mit einer Ungenauigkeit von  $0,3 \text{ \AA}$  abgeschätzt werden. Diese Beobachtung deutet stark auf eine Anbindung eines signifikanten Anteils des Peptides an MCC über eine Esterbindung hin. Der hier vorgestellte Ansatz der Kombination aus Isotopenmarkierung und DNP verstärkten 1D und 2D  $^{13}\text{C}$  Festkörper NMR Techniken lässt sich prinzipiell auch auf andere Peptide oder kleine Proteine mit Relevanz in biomedizinischen Anwendungen transferieren.

---

## Literatur

---

- [1] Z. Li, X. Yang, W. Li, H. Liu, *Carbohydrate Polymers* **2019**, *210*, 350–363.
- [2] S. K. Mahadeva, K. Walus, B. Stoeber, *ACS Applied Materials & Interfaces* **2015**, *7*, 8345–8362.
- [3] P. Kos, H. Plenio, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2015**, *54*, 13293–13296.
- [4] M. Bergmann, H. Plenio, *European Journal of Inorganic Chemistry* **2018**, *2018*, 2054–2059.
- [5] O. Halter, H. Plenio, *European Journal of Inorganic Chemistry* **2018**, *2018*, 2935–2943.
- [6] L. M. Hillscher, V. J. Liebich, O. Avrutina, M. Biesalski, H. Kolmar, *ChemTexts* **2021**, *7*, 14.
- [7] B. Krajewska, *Enzyme and Microbial Technology* **2004**, *35*, 126–139.
- [8] D. J. Macquarrie, J. J. E. Hardy, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2005**, *44*, 8499–8520.
- [9] C. Lee, S. Kim, Y.-H. Cho, *Advanced Sustainable Systems* **2022**, *6*, 2000216.
- [10] Y. Lin, D. Gritsenko, Q. Liu, X. Lu, J. Xu, *ACS Applied Materials & Interfaces* **2016**, *8*, 20501–20515.
- [11] N. M. Hoinka, T. Fuhrmann-Lieker, *Scientific Reports* **2019**, *9*, 1862.
- [12] I. Viola, N. Ghofraniha, A. Zacheo, V. Arima, C. Conti, G. Gigli, *Journal of Materials Chemistry C* **2013**, *1*, 8128.
- [13] S. H. Kim, C. M. Lee, K. Kafle, *Korean Journal of Chemical Engineering* **2013**, *30*, 2127–2141.
- [14] El Hariri El Nokab, Mustapha, M. H. Habib, Y. A. Alassmy, M. M. Abduljawad, K. M. Alshamrani, K. O. Sebakhy, *Polymers* **2022**, *14*, 1049.
- [15] M. Foston, *Current Opinion in Biotechnology* **2014**, *27*, 176–184.
- [16] M. Ghosh, N. Kango, K. K. Dey, *Journal of Biomolecular NMR* **2019**, *73*, 601–616.
- [17] E.-L. Hult, P. T. Larsson, T. Iversen, *Cellulose (London England)* **2000**, *7*, 35–55.
- [18] H. de La Motte, M. Hasani, H. Brelid, G. Westman, *Carbohydrate Polymers* **2011**, *85*, 738–746.
- [19] P. T. Larsson, K. Wickholm, T. Iversen, *Carbohydrate Research* **1997**, *302*, 19–25.
- [20] S. Maunu, T. Liitiä, S. Kauliomäki, B. O. Hortling, J. Sundquist, *Cellulose* **2000**, *7*, 147–159.
- [21] R. F. Moran, D. M. Dawson, S. E. Ashbrook, *International Reviews in Physical Chemistry* **2017**, *36*, 39–115.
- [22] D. Seelinger, S. Trosien, M. Nau, M. Biesalski, *Carbohydrate Polymers* **2021**, *254*, 117458.
- [23] D. Seelinger, M. Biesalski, *Gels* **2023**, *9*, 206.
- [24] P. Berruyer, M. Gericke, P. Moutzouri, D. Jakobi, M. Bardet, L. Karlson, S. Schantz, T. Heinze, L. Emsley, *Carbohydrate Polymers* **2021**, *262*, 117944.
- [25] P. Berruyer, P. Moutzouri, M. Gericke, D. Jakobi, M. Bardet, T. Heinze, L. Karlson, S. Schantz, L. Emsley, *Macromolecules* **2022**, *55*, 2952–2958.

- 
- [26] P. B. Groszewicz, P. Mendes, B. Kumari, J. Lins, M. Biesalski, T. Gutmann, G. Buntkowsky, *Cellulose* **2020**, *27*, 1239–1254.
- [27] L. Zhao, W. Li, A. Plog, Y. Xu, G. Buntkowsky, T. Gutmann, K. Zhang, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 26322–26329.
- [28] A. Kumar, H. Durand, E. Zeno, C. Balsollier, B. Watbled, C. Sillard, S. Fort, I. Baussanne, N. Belgacem, D. Lee, S. Hediger, M. Demeunynck, J. Bras, G. de Paëpe, *Chemical Science* **2020**, *11*, 3868–3877.
- [29] A. Kumar, B. Watbled, I. Baussanne, S. Hediger, M. Demeunynck, G. de Paëpe, *Communications Chemistry* **2023**, *6*, 58.
- [30] A. S. Monteiro, M. de Oliveira, S. Santagneli, C. Carcel, T. Gutmann, G. Buntkowsky, M. W. C. Man, H. S. Barud, S. J. L. Ribeiro, *The Journal of Physical Chemistry C* **2021**, *125*, 4498–4508.
- [31] A. Kirui, Z. Ling, X. Kang, M. C. D. Widanage, F. Mentink-Vigier, A. D. French, T. Wang, *Cellulose (London England)* **2019**, *26*, 329–339.
- [32] F. Deligey, M. A. Frank, S. H. Cho, A. Kirui, F. Mentink-Vigier, M. T. Swulius, B. T. Nixon, T. Wang, *Biomacromolecules* **2022**, *23*, 2290–2301.
- [33] P. Lorente, I. G. Shenderovich, N. S. Golubev, G. S. Denisov, G. Buntkowsky, H.-H. Limbach, *Magnetic Resonance in Chemistry* **2001**, *39*, S18–S29.
- [34] M. H. Levitt, *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Chichester England und Hoboken NJ, **2008**.
- [35] M. Cardona, P. Fulde, K. von Klitzing, H.-J. Queisser, H. K. V. Lotsch, C. P. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance*, Third Enlarged and Updated Edition, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **1990**.
- [36] L. Liang, Y. Ji, K. Chen, P. Gao, Z. Zhao, G. Hou, *Chemical Reviews* **2022**, *122*, 9880–9942.
- [37] S. R. Hartmann, E. L. Hahn, *Physical Review* **1962**, *128*, 2042–2053.
- [38] T. Gullion, J. Schaefer, *Journal of Magnetic Resonance* **1989**, *81*, 196–200.
- [39] K. T. Mueller, *Journal of Magnetic Resonance Series A* **1995**, *113*, 81–93.
- [40] P. J. E. Verdegem, M. Helmle, J. Lugtenburg, H. J. M. de Groot, *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 169–174.
- [41] M. H. Levitt, D. P. Raleigh, F. Creuzet, R. G. Griffin, *The Journal of Chemical Physics* **1990**, *92*, 6347–6364.
- [42] T. Karlsson, M. Edén, H. Luthman, M. H. Levitt, *Journal of Magnetic Resonance* **2000**, *145*, 95–107.
- [43] K. Takegoshi, K. Nomura, T. Terao, *Chemical Physics Letters* **1995**, *232*, 424–428.
- [44] N. C. Nielsen, H. Bildso/e, H. J. Jakobsen, M. H. Levitt, *The Journal of Chemical Physics* **1994**, *101*, 1805–1812.
- [45] S. Dusold, A. Sebald, *Journal of Magnetic Resonance* **2000**, *145*, 340–356.
- [46] D. Vanderhart, *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1987**, *72*, 13–47.
- [47] K. Takegoshi, S. Nakamura, T. Terao, *Chemical Physics Letters* **2001**, *344*, 631–637.
- [48] K. Takegoshi, S. Nakamura, T. Terao, *Chemical Physics Letters* **1999**, *307*, 295–302.
- [49] A. McDermott, M. G. Zysmilich, T. Polenova, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **1998**, *11*, 21–47.

- 
- [50] J. Matysik, Y. Ding, Y. Kim, P. Kurle, A. Yurkovskaya, K. Ivanov, A. Alia, *Applied Magnetic Resonance* **2022**, *53*, 521–537.
- [51] R. Tycko, J. A. Reimer, *Journal of Physical Chemistry* **1996**, *100*, 13240–13250.
- [52] P. J. Carson, C. R. Bowers, D. P. Weitekamp, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 11821–11822.
- [53] H. Henning, M. Dyballa, M. Scheibe, E. Klemm, M. Hunger, *Chemical Physics Letters* **2013**, *555*, 258–262.
- [54] C. Sauvée, M. Rosay, G. Casano, F. Aussenac, R. T. Weber, O. Ouari, P. Tordo, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2013**, *52*, 10858–10861.
- [55] A. Zagdoun, G. Casano, O. Ouari, M. Schwarzwälder, A. J. Rossini, F. Aussenac, M. Yulikov, G. Jeschke, C. Copéret, A. Lesage, P. Tordo, L. Emsley, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 12790–12797.
- [56] J. Eills, D. Budker, S. Cavagnero, E. Y. Chekmenev, S. J. Elliott, S. Jannin, A. Lesage, J. Matysik, T. Meersmann, T. Prisner, J. A. Reimer, H. Yang, I. V. Koptug, *Chemical Reviews* **2023**, *123*, 1417–1551.
- [57] A. S. L. Thankamony, J. J. Wittmann, M. Kaushik, B. Corzilius, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **2017**, *102-103*, 120–195.
- [58] A. G. M. Rankin, J. Trébosc, F. Pourpoint, J.-P. Amoureux, O. Lafon, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2019**, *101*, 116–143.
- [59] Q. Z. Ni, E. Daviso, T. V. Can, E. Markhasin, S. K. Jawla, T. M. Swager, R. J. Temkin, J. Herzfeld, R. G. Griffin, *Accounts of Chemical Research* **2013**, *46*, 1933–1941.
- [60] A. W. Overhauser, *Physical Review* **1953**, *92*, 411–415.
- [61] S. S. Nadar, P. D. Patil, M. S. Tiwari, D. J. Ahirrao, *Critical Reviews in Biotechnology* **2021**, *41*, 1046–1080.
- [62] D. R. Hristov, C. Rodriguez-Quijada, J. Gomez-Marquez, K. Hamad-Schifferli, *Sensors* **2019**, *19*, 554.
- [63] V. J. Liebich, O. Avrutina, J. Habermann, L. M. Hillscher, M. Langhans, T. Meckel, M. Biesalski, H. Kolmar, *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 2954–2962.
- [64] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 1340–1342.
- [65] K. U. Schwenke, D. Spiehl, M. Krauß, L. Riedler, A. Ruppenthal, K. Villforth, T. Meckel, M. Biesalski, D. Rupperecht, G. Schwall, *Scientific Reports* **2019**, *9*, 17212.
- [66] H. C. Arca, L. I. Mosquera-Giraldo, V. Bi, D. Xu, L. S. Taylor, K. J. Edgar, *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 2351–2376.
- [67] V. Vatanpour, M. E. Pasaoglu, H. Barzegar, O. O. Teber, R. Kaya, M. Bastug, A. Khataee, I. Koyuncu, *Chemosphere* **2022**, *295*, 133914.
- [68] D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, A. Bohn, *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 3358–3393.
- [69] A. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **1994**, *113*, 165–166.
- [70] A. Isogai, T. Hänninen, S. Fujisawa, T. Saito, *Progress in Polymer Science* **2018**, *86*, 122–148.

- 
- [71] A. E. J. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, J. A. P. P. van Dijk, J. A. M. Smit, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6541–6547.
- [72] A. E. J. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, *Synthesis* **1996**, *1996*, 1153–1176.
- [73] Y. Ono, M. Takeuchi, Y. Zhou, A. Isogai, *Cellulose* **2021**, *28*, 6035–6049.
- [74] V. A. Golubev, G. Rozantsev, M. B. Neiman, *Bulletin of the Academy of Sciences USSR Division of Chemical Science* **1965**, *14*, 1898–1904.
- [75] P. L. Anelli, C. Biffi, F. Montanari, S. Quici, *Journal of Organic Chemistry* **1987**, *52*, 2559–2562.
- [76] A. E. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, *Carbohydrate Research* **1995**, *269*, 89–98.
- [77] P. S. Chang, J. F. Robyt, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1996**, *15*, 819–830.
- [78] T. Saito, A. Isogai, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1983–1989.
- [79] T. Saito, I. Shibata, A. Isogai, N. Suguri, N. Sumikawa, *Carbohydrate Polymers* **2005**, *61*, 414–419.
- [80] T. Saito, Y. Okita, T. T. Nge, J. Sugiyama, A. Isogai, *Carbohydrate Polymers* **2006**, *65*, 435–440.
- [81] Y. Okita, S. Fujisawa, T. Saito, A. Isogai, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 518–522.
- [82] R. Hiraoki, Y. Ono, T. Saito, A. Isogai, *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 675–681.
- [83] T. Saito, A. Isogai, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2007**, *46*, 773–780.
- [84] A. Isogai, T. Saito, H. Fukuzumi, *Nanoscale* **2011**, *3*, 71–85.
- [85] R. Shinoda, T. Saito, Y. Okita, A. Isogai, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 842–849.
- [86] R. Hiraoki, H. Fukuzumi, Y. Ono, T. Saito, A. Isogai, *Cellulose* **2014**, *21*, 167–176.
- [87] T. Saito, M. Yanagisawa, A. Isogai, *Cellulose* **2005**, *12*, 305–315.
- [88] T. Isogai, M. Yanagisawa, A. Isogai, *Cellulose* **2009**, *16*, 117–127.
- [89] T. Kitaoka, Akira Isogai, Fumihiko Onabe, *Nordic Pulp & Paper Research Journal* **1999**, 279–284.
- [90] Yukinori Kobayashi, Tomohisa Gondo, Manabu Yamamoto, Tsuguyuki Saito, Akira Isogai, *Nordic Pulp & Paper Research Journal* **2016**, *31*, 248–254.
- [91] L. Dai, H. Dai, Y. Yuan, Sun Xuan, Zhu Zhengjun, *BioResources* **2011**, *6*, 2619–2631.
- [92] B. Sun, C. Gu, J. Ma, B. Liang, *Cellulose* **2005**, *12*, 59–66.
- [93] S. Montanari, M. Roumani, L. Heux, M. R. Vignon, *Macromolecules* **2005**, *38*, 1665–1671.
- [94] L. Svenningsson, T. Sparrman, E. Bialik, D. Bernin, L. Nordstierna, *Cellulose* **2019**, *26*, 4681–4692.
- [95] A. E. Bennett, C. M. Rienstra, M. Auger, K. V. Lakshmi, R. G. Griffin, *The Journal of Chemical Physics* **1995**, *103*, 6951–6958.
- [96] K. Daicho, S. Fujisawa, K. Kobayashi, T. Saito, J. Ashida, *Journal of Wood Science* **2020**, *66*, 1–7.
- [97] J. Leguy, Y. Nishiyama, B. Jean, L. Heux, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2019**, *7*, 412–420.
- [98] P. Liu, B. Pang, L. Tian, T. Schäfer, T. Gutmann, H. Liu, C. A. Volkert, G. Buntkowsky, K. Zhang, *ChemSusChem* **2018**, *11*, 3581–3585.
- [99] X. Sang, C. Qin, Z. Tong, S. Kong, Z. Jia, G. Wan, X. Liu, *Cellulose* **2017**, *24*, 2415–2425.
- [100] R. H. Atalla, D. L. Vanderhart, *Science* **1984**, *223*, 283–285.

- 
- [101] M. Younes, P. Aggett, F. Aguilar, R. Crebelli, B. Dusemund, M. Filipič, M. J. Frutos, P. Galtier, U. Gundert-Remy, G. G. Kuhnle, C. Lambré, J.-C. Leblanc, I. T. Lillegaard, P. Moldeus, A. Mortensen, A. Oskarsson, I. Stankovic, I. Waalkens-Berendsen, R. A. Woutersen, M. Wright, L. Herman, P. Tobback, F. Pizzo, C. Smeraldi, A. Tard, A. Papaioannou, D. Gott, *EFSA Journal* **2018**, *16*, e05062.
- [102] M. Martín-Pastor, E. Stoyanov, *Journal of Polymer Science* **2023**, *61*, 646–658.
- [103] N. Grizzuti, S. Cavella, P. Cicarelli, *Journal of Rheology* **1990**, *34*, 1293–1310.
- [104] P. Navard, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **1986**, *24*, 435–442.
- [105] S. Suto, N. Ui, *Journal of Applied Polymer Science* **1996**, *61*, 2273–2278.
- [106] J. Bajdik, G. Regdon, T. Marek, I. Eros, K. Süvegh, K. Pintye-Hódi, *International Journal of Pharmaceutics* **2005**, *301*, 192–198.
- [107] P. Choi, T. A. Kavassalis, A. Rudin, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **1994**, *33*, 3154–3159.
- [108] E. Doelker, *Studies in Polymer Science* **1990**, *8*, 125–145.
- [109] A. Thakur, H. Kaur, *Materials Today: Proceedings* **2022**, *48*, 1431–1438.
- [110] M. Donbrow, Y. Samuelov, *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1980**, *32*, 463–470.
- [111] Z. Aytac, H. S. Sen, E. Durgun, T. Uyar, *Colloids and surfaces. B Biointerfaces* **2015**, *128*, 331–338.
- [112] Y. Bai, Z. Zhang, A. Zhang, L. Chen, C. He, X. Zhuang, X. Chen, *Carbohydrate Polymers* **2012**, *89*, 1207–1214.
- [113] R. A. Wach, H. Mitomo, F. Yoshii, T. Kume, *Macromolecular Materials and Engineering* **2002**, *287*, 285.
- [114] T. Gutmann, P. B. Groszewicz, G. Buntkowsky, *Solid-State NMR of Nanocrystals*, **2019**.
- [115] Ü. Akbey, L. T. Kuhn, *Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy*, Heidelberg, **2013**.
- [116] A. B. Barnes, G. de Paëpe, P. C. A. van der Wel, K.-N. Hu, C.-G. Joo, V. S. Bajaj, M. L. Mak-Jurkauskas, J. R. Sirigiri, J. Herzfeld, R. J. Temkin, R. G. Griffin, *Applied Magnetic Resonance* **2008**, *34*, 237–263.
- [117] L. Zhao, I. Smolarkiewicz, H.-H. Limbach, H. Breitzke, K. Pogorzelec-Glaser, R. Pankiewicz, J. Tritt-Goc, T. Gutmann, G. Buntkowsky, *The Journal of Physical Chemistry C* **2016**, *120*, 19574–19585.
- [118] B. M. Fung, A. K. Khitrin, K. Ermolaev, *Journal of Magnetic Resonance* **2000**, *142*, 97–101.
- [119] A. Dos, V. Schimming, S. Tosoni, H.-H. Limbach, *The journal of physical chemistry. B* **2008**, *112*, 15604–15615.
- [120] P. Diehl, E. Fluck, R. Kosfeld, *<sup>15</sup>N-NMR Spectroscopy*, N, Springer Berlin Heidelberg, Berlin/Heidelberg, **1981**.
- [121] S. Ahmed, S. Ikram, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2015**, *6*, 14–30.
- [122] W. Wang, C. Xue, X. Mao, *International Journal of Biological Macromolecules* **2020**, *164*, 4532–4546.
- [123] A. A. Kumar, J. W. Hennek, B. S. Smith, S. Kumar, P. Beattie, S. Jain, J. P. Rolland, T. P. Stossel, C. Chunda-Liyoka, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2015**, *54*, 5836–5853.
- [124] M. N. Ravi Kumar, *Reactive and Functional Polymers* **2000**, *46*, 1–27.
- [125] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, E. Carrilho, *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 3–10.

- 
- [126] J. Qi, X.-X. Fan, D.-M. Deng, H.-B. He, L.-Q. Luo, *Chinese Journal of Analytical Chemistry* **2020**, *48*, 1616–1624.
- [127] N. Morin-Crini, E. Lichtfouse, G. Torri, G. Crini, *Environmental Chemistry Letters* **2019**, *17*, 1667–1692.
- [128] Y. Xia, J. Si, Z. Li, *Biosensors & bioelectronics* **2016**, *77*, 774–789.
- [129] J. Blechschmidt, Hrsg., *Taschenbuch der Papiertechnik: Mit 94 Tabellen*, München, **2013**.
- [130] Gadgery K. K., *Int. J. Mech. Eng. Technol.* **2017**, *8*, 220.
- [131] R. Song, Q. Zhang, Y. Chu, L. Zhang, H. Dai, W. Wu, *Cellulose* **2019**, *26*, 9553–9565.
- [132] G. Z. Kyzas, D. N. Bikiaris, *Marine Drugs* **2015**, *13*, 312–337.
- [133] T. Gutmann, B. Kumari, L. Zhao, H. Breitzke, S. Schöttner, C. Rüttiger, M. Gallei, *The Journal of Physical Chemistry C* **2017**, *121*, 3896–3903.
- [134] P. Liu, H. Liu, T. Schäfer, T. Gutmann, H. Gibhardt, H. Qi, L. Tian, X. C. Zhang, G. Buntkowsky, K. Zhang, *Green Chemistry* **2021**, *23*, 745–751.
- [135] W. Zhao, L. D. Fernando, A. Kirui, F. Deligey, T. Wang, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2020**, *107*, 101660.
- [136] Gutmann T., *Modern Magnetic Resonance*, **2017**.
- [137] F. A. Perras, H. Luo, X. Zhang, N. S. Mosier, M. Pruski, M. M. Abu-Omar, *The Journal of Physical Chemistry A* **2017**, *121*, 623–630.
- [138] H. Takahashi, D. Lee, L. Dubois, M. Bardet, S. Hediger, G. de Paëpe, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2012**, *51*, 11766–11769.
- [139] T. Wang, Y. B. Park, M. A. Caporini, M. Rosay, L. Zhong, D. J. Cosgrove, M. Hong, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, 16444–16449.
- [140] M. Lavertu, Z. Xia, A. N. Serreqi, M. Berrada, A. Rodrigues, D. Wang, M. D. Buschmann, A. Gupta, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2003**, *32*, 1149–1158.
- [141] M. Rinaudo, *Progress in Polymer Science* **2006**, *31*, 603–632.
- [142] P. Bertani, J. Raya, B. Bechinger, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2014**, *61-62*, 15–18.
- [143] H. Benedict, C. Hoelger, F. Aguilar-Parrilla, W.-P. Fehlhammer, M. Wehlan, R. Janoschek, H. H. Limbach, *Journal of Molecular Structure* **1996**, *378*, 11–16.
- [144] M. R. Kasaai, *Carbohydrate Polymers* **2010**, *79*, 801–810.
- [145] S. F. Tanner, H. Chanzy, M. Vincendon, J. C. Roux, F. Gaill, *Macromolecules* **1990**, *23*, 3576–3583.
- [146] T. Kameda, M. Miyazawa, H. Ono, M. Yoshida, *Macromolecular Bioscience* **2005**, *5*, 103–106.
- [147] H. Saito, R. Tabeta, K. Ogawa, *Macromolecules* **1987**, 2424–2430.
- [148] Y. Fan, T. Saito, A. Isogai, *Carbohydrate Polymers* **2009**, *77*, 832–838.
- [149] T. Kameda, N. Takeda, S. Kuroki, H. Kurosu, S. Ando, I. Ando, A. Shoji, T. Ozaki, *Journal of Molecular Structure* **1996**, *384*, 17–23.
- [150] J. R. Rodríguez-Núñez, T. J. Madera-Santana, D. I. Sánchez-Machado, J. López-Cervantes, H. Soto Valdez, *Journal of Polymers and the Environment* **2014**, *22*, 41–51.
- [151] M. Chen, T. Runge, L. Wang, R. Li, J. Feng, X.-L. Shu, Q.-S. Shi, *Carbohydrate Polymers* **2018**, *200*, 115–121.

- 
- [152] A. Domján, J. Bajdik, K. Pintye-Hódi, *Macromolecules* **2009**, *42*, 4667–4673.
- [153] L. Heux, J. Brugnerotto, J. Desbrières, M. F. Versali, M. Rinaudo, *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 746–751.
- [154] A. Dos, V. Schimming, M. Chan-Huot, H.-H. Limbach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 10235–10245.
- [155] C. Gartner, B. L. López, L. Sierra, R. Graf, H. W. Spiess, M. Gaborieau, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1380–1386.
- [156] C. Dubois, N. Herzog, C. Rüttiger, A. Geißler, E. Grange, U. Kunz, H.-J. Kleebe, M. Biesalski, T. Meckel, T. Gutmann, M. Gallei, A. Andrieu-Brunsen, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **2017**, *33*, 332–339.
- [157] A. E. Bennett, R. G. Griffin, J. H. Ok, S. Vega, *The Journal of Chemical Physics* **1992**, *96*, 8624–8627.
- [158] C. M. Buchanan, J. A. Hyatt, D. W. Lowman, *Macromolecules* **1987**, *20*, 2750–2754.
- [159] A. Idström, S. Schantz, J. Sundberg, B. F. Chmelka, P. Gatenholm, L. Nordstierna, *Carbohydrate Polymers* **2016**, *151*, 480–487.
- [160] H. Kono, Y. Numata, T. Erata, M. Takai, *Macromolecules* **2004**, *37*, 5310–5316.
- [161] H. Kono, Y. Numata, *Cellulose* **2006**, *13*, 317–326.
- [162] T. Maly, G. T. Debelouchina, V. S. Bajaj, K.-N. Hu, C.-G. Joo, M. L. Mak-Jurkauskas, J. R. Sirigiri, P. C. A. van der Wel, J. Herzfeld, R. J. Temkin, R. G. Griffin, *Journal of Chemical Physics* **2008**, *128*, 052211.
- [163] L. D. Fernando, W. Zhao, M. C. D. Widanage, F. Mentink-Vigier, T. Wang, *Solid-State NMR and DNP Investigations of Carbohydrates and Cell-Wall Biomaterials*, Wiley, eMagRes, **2020**.
- [164] A. R. von Stockert, A. Luongo, M. Langhans, T. Brandstetter, J. Rühle, T. Meckel, M. Biesalski, *Sensors* **2021**, *21*, 6348.
- [165] A. L'Heureux, F. Beaulieu, C. Bennett, D. R. Bill, S. Clayton, F. Laflamme, M. Mirmehrabi, S. Tadayon, D. Tovell, M. Couturier, *Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75*, 3401–3411.
- [166] B. J. van Rossum, H. Forster, H. J. M. Groot, *Journal of Magnetic Resonance* **1997**, *124*, 516–519.
- [167] D. G. Cory, W. M. Ritchey, *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1988**, *80*, 128–132.
- [168] C. A. Cateto, A. Ragauskas, *RSC Advances* **2011**, *1*, 1695.
- [169] M. Amblard, J.-A. Fehrentz, J. Martinez, G. Subra, *Molecular Biotechnology* **2006**, *33*, 239–254.
- [170] R. H. Atalla, J. C. Gast, D. W. Sindorf, V. J. Bartuska, G. E. Maciel, *Journal of the American Chemical Society* **1980**, *102*, 3249–3251.
- [171] K. P. van der Zwan, W. Riedel, F. Aussenac, C. Reiter, K. Kreger, H.-W. Schmidt, T. Risse, T. Gutmann, J. Senker, *The Journal of Physical Chemistry C* **2021**, *125*, 7287–7296.
- [172] N. Jirakittiwut, N. Panyain, T. Nuanyai, T. Vilaivan, T. Praneenarat, *RSC Advances* **2015**, *5*, 24110–24114.
- [173] K. Ohkawa, M. Nishibayashi, K. Devarayan, M. Hachisu, J. Araki, *International Journal of Biological Macromolecules* **2013**, *53*, 150–159.
- [174] M. Moazeni, F. Karimzadeh, A. Kermanpur, *Biosensors & bioelectronics* **2018**, *117*, 748–757.
- [175] N. Khazanov, T. Iline-Vul, E. Noy, G. Goobes, H. Senderowitz, *Journal of Physical Chemistry B* **2016**, *120*, 309–319.

- 
- [176] H. Nakazawa, A. Ikeuchi, D.-M. Kim, Y. Ishigaki, H. Asano, K. Kouda, I. Kumagai, M. Umetsu, *Green Chemistry* **2013**, *15*, 365.
- [177] J. Guo, J. M. Catchmark, M. N. A. Mohamed, A. J. Benesi, M. Tien, T.-H. Kao, H. D. Watts, J. D. Kubicki, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 1795–1805.
- [178] T. Serizawa, K. Iida, H. Matsuno, K. Kurita, *Chemistry Letters* **2007**, *36*, 988–989.
- [179] P. Wilke, D. Abt, S. Große, C. Barner-Kowollik, H. G. Börner, *Journal of Materials Chemistry A* **2017**, *5*, 16144–16149.
- [180] T. Tischer, T. K. Claus, M. Bruns, V. Trouillet, K. Linkert, C. Rodriguez-Emmenegger, A. S. Goldmann, S. Perrier, H. G. Börner, C. Barner-Kowollik, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 4340–4350.
- [181] T. Tischer, T. K. Claus, K. K. Oehlschlaeger, V. Trouillet, M. Bruns, A. Welle, K. Linkert, A. S. Goldmann, H. G. Börner, C. Barner-Kowollik, *Macromolecular Rapid Communications* **2014**, *35*, 1121–1127.
- [182] T. Tischer, A. S. Goldmann, K. Linkert, V. Trouillet, H. G. Börner, C. Barner-Kowollik, *Advanced Functional Materials* **2012**, *22*, 3853–3864.
- [183] T. Tischer, C. Rodriguez-Emmenegger, V. Trouillet, A. Welle, V. Schueler, J. O. Mueller, A. S. Goldmann, E. Brynda, C. Barner-Kowollik, *Advanced Materials* **2014**, *26*, 4087–4092.
- [184] K. Heise, T. Koso, A. W. T. King, T. Nypelö, P. Penttilä, B. L. Tardy, M. Beaumont, *Journal of materials chemistry. A* **2022**, *10*, 23413–23432.
- [185] Merrifield R.B., *Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide*, **1963**.
- [186] B. Neises, W. Steglich, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1978**, *17*, 522–524.
- [187] J. Liu, P. B. Groszewicz, Q. Wen, A. S. L. Thankamony, B. Zhang, U. Kunz, G. Sauer, Y. Xu, T. Gutmann, G. Buntkowsky, *The Journal of Physical Chemistry C* **2017**, *121*, 17409–17416.
- [188] J. Liu, C. Fasel, P. Braga-Groszewicz, N. Rothermel, A. S. Lilly Thankamony, G. Sauer, Y. Xu, T. Gutmann, G. Buntkowsky, *Catalysis Science & Technology* **2016**, *6*, 7830–7840.
- [189] Z. Li, L. Rösler, K. Herr, M. Brodrecht, H. Breitzke, K. Hofmann, H.-H. Limbach, T. Gutmann, G. Buntkowsky, *ChemPlusChem* **2020**, *85*, 1737–1746.
- [190] T. Biedenbänder, V. Aladin, S. Saeidpour, B. Corzilius, *Chemical Reviews* **2022**, *122*, 9738–9794.
- [191] J.-M. Lopez del Amo, D. Schneider, A. Loquet, A. Lange, B. Reif, *Journal of Biomolecular NMR* **2013**, *56*, 359–363.
- [192] B. Busi, J. R. Yarava, A. Hofstetter, N. Salvi, D. Cala-De Paepe, J. R. Lewandowski, M. Blackledge, L. Emsley, *Journal of Physical Chemistry B* **2018**, *122*, 9697–9702.
- [193] B. Busi, J. R. Yarava, A. Bertarello, F. Freymond, W. Adamski, D. Maurin, M. Hiller, H. Oschkinat, M. Blackledge, L. Emsley, *Journal of Physical Chemistry B* **2021**, *125*, 2212–2221.
- [194] H.-J. Schneider, W. Gschwendtner, D. Heiske, V. Hoppen, F. Thomas, *Tetrahedron* **1977**, *33*, 1769–1773.
- [195] B. Kumari, M. Brodrecht, T. Gutmann, H. Breitzke, G. Buntkowsky, *Applied Magnetic Resonance* **2019**, *50*, 1399–1407.

---

# Abbildungsverzeichnis

---

3.1	Schematische Darstellung der Pulssequenz für das Kreuzpolarisationsexperiment. . . . .	11
3.2	Schematische Darstellung der Pulssequenz für das Saturation Recovery Experiment. . . . .	11
3.3	Schematische Darstellung der Pulssequenz für das REDOR Experiment. Adaptiert von [38]	12
3.4	Schematische Darstellung der Pulssequenz für das DQrotreson. Adaptiert von [42] . . . . .	13
3.5	Schematische Darstellung der Pulssequenz für das DARR. Adaptiert von [48] . . . . .	14
3.6	Schematische Darstellung der in dieser Arbeit verwendeten Radikale AMUPol und TEKPol.	15
3.7	Schematische Darstellung des Solid-Effekts. Links ist der Zustand eines Elektrons und eines Kerns im thermischen Gleichgewicht gezeigt. In der Mitte und Rechts ist jeweils der Zustand für positive und negative Verstärkung gezeigt. Der NMR Übergang ist mit $\omega_n$ und der EPR Übergang mit $\omega_e$ bezeichnet. Adaptiert von [59] . . . . .	16
3.8	Schematische Darstellung des Cross-Effekts. Links ist der Zustand zweier Elektronen und eines Kerns im Equilibrium gezeigt. In der Mitte und Rechts ist jeweils der Zustand für positive und negative Verstärkung gezeigt. Der NMR Übergang ist mit $\omega_n$ und die EPR Übergänge mit $\omega_{e1}$ und $\omega_{e2}$ bezeichnet. Adaptiert von [59] . . . . .	17
4.1	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren TEMPO oxidiertes Fasern im Vergleich mit unoxidierten Fasern sowie eine Zuordnung der Signale. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste) . . . . .	21
4.2	Anteil der oxidierten Fraktionen in den untersuchten Faserproben ermittelt durch $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR. Die Anteile sind als Funktion der NaClO Konzentration (A) bzw. der Oxidationszeit (B) aufgetragen. Anmerkung: Die Proben wurden bei einem pH Wert von 10,5 oxidiert. Die Referenzproben wurden unter gleichen Bedingungen untersucht, jedoch ohne Zusatz von TEMPO und NaClO (blaue Dreiecke). Die Blindproben zeigen unbehandelte Baumwollfasern (rote Kreise). Adaptiert von [4] (Publikationsliste) . . . . .	21
4.3	Verhältnis zwischen den ungeordneten und geordneteren Anteilen des $\text{C}_4$ (a) und $\text{C}_6$ (b) berechnet aus der Analyse der $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR Spektren der untersuchten Baumwollfasern. Die Verhältnisse sind als Funktion des Carboxylgehaltes aufgetragen. Leere Quadrate zeigen die Werte für die Oxidation bei verschiedenen Oxidationszeiten und die ausgefüllten Quadrate zeigen die Oxidation bei verschiedenen NaClO Konzentrationen. Die Referenzproben (blaue Dreiecke) und die Blindprobe (rote Kreise) wurden wie im Experimenterteil beschrieben hergestellt. Adaptiert von [4] (Publikationsliste) . . . . .	22
4.4	Verhältnis der Summe des $\text{C}_{6,am.}$ ( $I_{am.}$ $\text{C}_6$ ) Signals und des $\text{C}=\text{O}$ ( $I_{ox.}$ ) Signals zum $\text{C}_{6,kr.}$ ( $I_{kr.}$ $\text{C}_6$ ) Signal, berechnet aus der Analyse der $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR Spektren, aufgetragen über den Carboxylatgehalt. Leere Quadrate zeigen die Werte für die Oxidation bei verschiedenen Oxidationszeiten und ausgefüllte Quadrate zeigen die Oxidation bei verschiedenen NaClO Konzentrationen. Die Referenzproben (blaue Dreiecke) und die Blindprobe (rote Kreise) wurden wie im Experimenterteil beschrieben hergestellt. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)	23

4.5	a) $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektren von HPC, oxidierter HPC und oxidierter HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix. b) Vergrößerung der Region von 100-200 ppm um schwächere Signale sichtbar zu machen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	26
4.6	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektrum von HPC imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	27
4.7	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektrum von oxidierter HPC imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	27
4.8	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektrum von oxidierter HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix gemessen mit MW An und Aus. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	28
4.9	a) $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$ CP MAS DNP Spektrum von oxidierter HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol DMSO- $\text{d}_6/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	29
5.1	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR Spektren von kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>3a</b> ) aufgenommen mit und ohne MW, und Tabelle mit Zuordnung der Signale. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	35
5.2	a) DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe <b>1a</b> ), kalligraphischem Papier (Probe <b>2a</b> ) und kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>3a</b> ). b) Vergrößerung des Bereiches von 100 bis 150 ppm. Der Skalierungsfaktor 16 ist notwendig um die Signale des Calcofluor White sichtbar zu machen. Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Die gestrichelten Linien sind als Orientierungshilfe eingezeichnet. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	35
5.3	Vergleich der DNP verstärkten $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$ CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe <b>1a</b> ) und kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>3a</b> ). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	36

5.4	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe <b>1a</b> ), Chitosan (Probe <b>4a</b> ) und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>5a</b> ). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Zum Vergleich ist ein Spektrum, welches mit 8 kHz Rotationsgeschwindigkeit gemessen wurde in Anhang Abbildung 6.27 zu sehen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	38
5.5	Links: $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von reinem Chitosan (Probe <b>4</b> ) imprägniert mit Wasser (Probe <b>4b</b> ) und imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) (Probe <b>4c</b> ). Rechts: $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>5</b> ), zusätzlich imprägniert mit Wasser (Probe <b>5b</b> ) und zusätzlich imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) (Probe <b>5c</b> ). Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei Raumtemperatur und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	39
5.6	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$ CP MAS NMR Spektren von Calcofluor White (Probe <b>1a</b> ), Chitosan (Probe <b>4a</b> ) und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>5a</b> ). Alle Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	40
5.7	ASE Experimente an kalligraphischem Papier und Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>3</b> und <b>5</b> ). Zum Vergleich wird das Fluoreszenzspektrum von Probe <b>1</b> gezeigt. Die maximale Intensität der Spektren wurde auf 1 normiert. . . . .	41
6.1	Schematische Darstellung der Funktionalisierung des Papiers/MCC mit Fmoc-Glycin. . . . .	44
6.2	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von $^{15}\text{N}$ markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier mit a) MW An und Aus und b) als Vergrößerung mit einer Zuordnung der sichtbaren Signale. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	47
6.3	DNP verstärktes $^{13}\text{C}\{^{15}\text{N}\}$ REDOR Experiment von a) reinem $^{15}\text{N}$ markiertem Fmoc-Glycin in einer 15 mM TEKPol TCE Matrix und b) $^{15}\text{N}$ markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier in einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix. . . . .	48
6.4	DNP verstärkte $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ DARR Korrelationsspektren des $^{13}\text{C}$ markierten Fmoc-Glycins an der C=O Position auf MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz mit einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	49
6.5	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS DQrotreson Spektrum von $^{13}\text{C}$ markiertem Fmoc-Glycin auf MCC und reinem MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren sind auf ihre maximale Intensität normiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10,861 kHz mit einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	49
6.6	Schematische Darstellung der Funktionalisierung des Papiers mit Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ). . . . .	53

6.7	Quantitative $^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papieren aus Baumwollfasern mit folgenden Syntheserouten: (a) ohne Kopplungsreagenz, (b) mit HATU+DIPEA als Kopplungsreagenz, (c) mit EDC·HCl+DMAP als Kopplungsreagenz. (d) Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) als Vergleich. Die Spektren (a)-(c) wurden mit TFMPCA als internen Standard und (d) wurde ohne internen Standard gemessen. Die Spektren wurden auf ihre maximale Intensität normiert. Spektrum d) wurde mit einem Zoomfaktor von 0,1 dargestellt. Sternchen (*) und Rauten (#) zeigen die Position der Rotationsseitenbanden des internen Standards bzw. des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) an. Das Signal bei -81 ppm in Spektrum d) stammt von einer Verunreinigung. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz bei einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	56
6.8	Beladung der Papiersubstrate mit Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) analysiert mit quantitativer $^{19}\text{F}$ MAS NMR (siehe Anhang 6.36) als Funktion des Verhältnisses der eingesetzten Aminosäure zur Anzahl der Glukoseeinheiten im Papier. Die eingezeichnete Linie dient zur Orientierung. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	57
6.9	(a) $^1\text{H}\rightarrow^{19}\text{F}$ CP MAS FSLG HETCOR Spektrum des trockenen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und (c) Dekonvolution der Projektion der $^1\text{H}$ Dimension und Signalzuordnung. (b) $^1\text{H}\rightarrow^{19}\text{F}$ CP MAS FSLG HETCOR Spektrum der 4:1 EDC·HCl Probe und (d) Dekonvolution der Projektion der $^1\text{H}$ Dimension und Signalzuordnung. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 14 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Die Signalzuordnung wurde anhand der $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ FSLG und $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS FSLG HETCOR Spektren (siehe Anhang 6.37) durchgeführt. Das mit Raute (#) markierte Signal stammt möglicherweise von einer Verunreinigung durch Schliff fett. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	58
6.10	Festkörper DNP NMR Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisiertem Papier imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w). Die Spektren wurden bei 110 K aufgenommen. (a) $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren der 2:1 Probe mit EDC·HCl mit und ohne MW gemessen und Zuordnung der Cellulosesignale $\text{C}_1\text{-C}_6$ . (b) Verstärkungsfaktoren mit zugehörigem Fehler für die verschiedenen Kohlenstoffatome in der Cellulose. (c) Vergrößerung der Region von 50 bis 0 ppm der $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren gemessen mit MW für die Proben 2:1, 1:1 und 0,5:1 und Zuordnung der Kohlenstoffatome. Die Spektren in (c) wurden auf die Intensität des $\text{C}_1$ Signals bei 103 ppm normiert. Der Peak bei etwa 25 ppm in Spektrum (c) zeigt eine Überlappung des Signals des Methylkohlenstoffes der Boc-Schutzgruppe mit den Rotationsseitenbanden des $\text{C}_1$ Signals der Cellulose. Das Signal bei 31 ppm im Spektrum der 0,5:1 Probe mit EDC·HCl stammt vermutlich von einer Verunreinigung durch verbliebenes DMF in der Probe, was nicht durch die Waschvorgänge entfernt werden konnte. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Zusätzliche Signale, die mit einem Plus (+) markiert sind, gehören zu Verunreinigungen in der Probe, welche durch die DNP Verstärkung sichtbar werden. (d) DNP verstärkte $^1\text{H}\rightarrow^{15}\text{N}$ CP MAS Spektren der 2:1 Probe mit EDC·HCl und der Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Referenzprobe. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	60
6.11	Festkörper DNP Spektren von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisierten Papiermaterialien imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w). Die Spektren wurden bei 110 K aufgenommen. (a) $^{19}\text{F}$ MAS Spektren aufgenommen mit und ohne MW der 4:1 Probe. (b) DNP verstärkte $^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektren der Proben 2:1, 1:1, 0,5:1 und 0,125:1 aufgenommen mit MW. Die Spektren wurden auf einen Scan normiert. Sternchen (*) und Rauten (#) zeigen jeweils die Rotationsseitenbanden des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und einer Verunreinigung an. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	61

6.12	Strukturen von a) Peptid 1, b) Peptid 2 und c) Peptid 3. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	65
6.13	$^{19}\text{F}$ MAS Spektrum von Peptid 2 angebunden auf MCC. Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA wurden mit Sternchen (*) markiert. Das Signal, welches mit einer Raute (#) markiert wurde, stammt von einer Verunreinigung. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Die Struktur des internen Standards TFMPCA ist im Spektrum gezeigt. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	66
6.14	a) $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektren von Peptid 1 angebunden auf MCC gemessen mit und ohne MW. b) $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS Spektrum von reinem Peptid 1, vergrößerte Darstellung des $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS DNP Spektrums von Peptid 1 angebunden auf MCC und Signalzuordnung. Rotationsseitenbanden wurden mit einem Sternchen (*) markiert. Für die DNP Probenpräparation wurde eine 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix verwendet. Alle Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz aufgenommen. DNP Spektren wurden bei einem Feld von 9,4 T und das Festkörper NMR Spektrum bei einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Die Signalzuordnung wurde mit der Vorhersage der $^{13}\text{C}$ chemischen Verschiebung der ACDLabs Software durchgeführt. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	67
6.15	DNP verstärkte $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von a) Peptid 3 chemisch angebunden an MCC und b) physikalische Mischung von Peptid 3 mit MCC. Die Spektren wurden für eine leichtere Vergleichbarkeit auf die Intensität des $^{13}\text{C}=\text{O}$ Signals normiert. Die Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	68
6.16	DNP verstärkte $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ DARR Spektren von Peptid 3 angebunden an MCC mit einer Mischzeit von a) 50 ms und b) 500 ms. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix präpariert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	69
6.17	Vergrößerung der DNP verstärkten $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ DARR Spektren von Peptid 3, chemisch angebunden an MCC, gemessen mit einer Mischzeit von 500 ms und einer Rotationsfrequenz von a) 8 kHz und b) 12 kHz. c) Extrahierte Zeile bei 171 ppm von Spektrum a) um den Rauschlevel abschätzen zu können. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	69
6.18	DNP verstärkte $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ DARR Spektren a) der physikalischen Mischung des Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w) und b) des Peptid 3 angebunden an MCC mit einer Mischzeit von 50 ms. Die Proben wurden mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Die Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	70
6.19	a) DNP verstärktes $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS DQrotreson Spektrum und b) DNP verstärktes $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS Spektrum von Peptid 3 angebunden an MCC. Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 10,949 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	71
6.20	DNP verstärktes $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$ CP MAS DQrotreson Spektrum der physikalischen Mischung von Peptid 3 mit MCC (1:3,8 w/w). Die Probe wurde mit einer 15 mM AMUPol $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1 w/w) Matrix imprägniert. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 10,949 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. Adaptiert von [3] (Publikationsliste)	72

6.21	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren der TEMPO oxidierten Fasern gemessen für verschiedene NaClO Konzentrationen zwischen 0,5-15 mmol/g. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste) .	97
6.22	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren der TEMPO oxidierten Fasern gemessen für verschiedene Reaktionszeiten zwischen 0,5-24 h. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste) . . . . .	98
6.23	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren der Referenz Fasern behandelt mit NaOH bei einem pH-Wert von 10,5 für 4 und 24 h, sowie die unbehandelte Blindprobe. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste) . . . . .	99
6.24	$^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$ CP MAS DNP Spektrum von oxidiertem HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) Matrix. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	100
6.25	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von a) kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>3a</b> ) und b) Calcofluor White (Probe <b>1a</b> ), beide imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w), aufgenommen bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und 10 kHz und einem Feld von 9,4 T. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	102
6.26	$^{13}\text{C}$ NMR Spektrum von Calcofluor White (Probe <b>1</b> ) gelöst in $\text{DMSO-}d_6$ aufgenommen an einem 500 MHz Spektrometer und die zugehörige Zuordnung der Kohlenstoffatome des Calcofluor White. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	102
6.27	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren des Chitosans imprägniert mit Calcofluor White und einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) (Probe <b>5a</b> ) aufgenommen bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und 10 kHz und einem Feld von 9,4 T. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	103
6.28	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von a) Chitosan (Probe <b>4a</b> ) und b) Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe <b>5a</b> ), beide imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w). Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T mit und ohne MW aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (*) markiert. Zum besseren Vergleich sind die Spektren ohne MW um den Faktor 65 vergrößert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	104
6.29	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von purem Chitosan, wie es von Sigma-Aldrich bezogen wurde (Probe <b>6</b> ), zusätzlich imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ (6:3:1 w/w/w) (Probe <b>6b</b> ) bzw. imprägniert mit Wasser (Probe <b>6c</b> ). Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T bei Raumtemperatur aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	105
6.30	DNP verstärkte $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektren von Baumwollpapier imprägniert mit unterschiedlichen DNP Matrizen. Für die TCE Matrix wurde TEKPol als Radikal in einer 15 mM Konzentration und für alle anderen Matrizen wurde AMUPol in einer 15 mM Konzentration verwendet. Dabei wurden 16 mg der Baumwollpapiere mit 16 $\mu\text{l}$ der DNP Matrix imprägniert. Alle Spektren wurden in Wissembourg bei 9,4 T, einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und mit 32 Scans aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste) . . . . .	106

6.31	DNP verstärkte $^{13}\text{C}\{^{15}\text{N}\}$ REDOR Spektren von $^{15}\text{N}$ markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $d_8$ /D $_2$ O/H $_2$ O (6:3:1 w/w/w) Matrix. Das dephasierete Signal ist bei 173 ppm zu sehen. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen. . . . .	107
6.32	$^1\text{H}$ Flüssig NMR Spektrum von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) in CDCl $_3$ . Adaptiert von [2] (Publikationsliste)	108
6.33	Aufbaukurven der $^{19}\text{F}$ Magnetisierung aufgenommen mit einem Saturation Recovery Experiment von a) TFMPCA und b) 4:1 Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) Papier und dazugehörige $T_1$ Fits. Um die Fläche jedes Datenpunktes zu bestimmen wurde das Spektrum im Bereich von a) -41 bis -58 ppm und von b) -147 bis -176 ppm integriert. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . .	108
6.34	DNP verstärkte $^{19}\text{F}$ Festkörper NMR Aufbaukurve des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) mit einem Fit zur Bestimmung von $T_B$ . Um die Fläche für jeden Datenpunkt zu bestimmen wurde das Spektrum im Bereich von -603 bis 118 ppm integriert. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	109
6.35	$^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektren von 4:1 Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisiertem Papiermaterial und reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ). Die Spektren wurden auf ihre maximale Peakintensität normiert. Sternchen (*) zeigen Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA und Rauten (#) Rotationsseitenbanden des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) bei -171,5 ppm an. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	110
6.36	Quantitative $^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektren des funktionalisierten Papiermaterials, präpariert mit verschiedenen Äquivalenten des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (4:1, 2:1, 1:1, 0,5:1). Die Spektren wurden auf ihre maximale Intensität normiert. Anmerkung: Sternchen (*) markieren die Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA. Der zusätzliche Peak bei -78 ppm im Spektrum der 0,5:1 Probe stammt von LiNTF $_2$ Rückständen im Rotor, was die quantitative Messung jedoch nicht beeinflusst. Die Rotationsseitenbanden dieses Signals sind mit einem Plus (+) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	113
6.37	a) $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ), b) $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ FSLG Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ), c) $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ CP MAS FSLG HETCOR Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und d) $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ FSLG Spektrum der 4:1 EDC-HCl Probe. Anmerkung: Die Proben wurden unter Vakuum vor der Messung getrocknet um eine Überlagerung mit dem $^1\text{H}$ Signal des Wassers zu vermeiden. Das Doublet des Signals des Kohlenstoffes 4 stammt von der $J^1(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C})$ Kopplung und liegt im Bereich von 190 Hz[194], was sichtbar ist, da das Spektrum ohne $^{19}\text{F}$ Entkopplung gemessen wurde. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	114
6.38	Quantitatives $^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektrum bei einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) im Vergleich mit DNP verstärktem $^{19}\text{F}$ MAS NMR Spektrum bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) in einer 15 mM AMUPol Glycerol- $d_8$ /D $_2$ O/H $_2$ O (6:3:1 w/w/w) Matrix. Adaptiert von [2] (Publikationsliste) . . . . .	116

---

# Abkürzungsverzeichnis

---

**AMUPol** AMUPol

**ASE** Amplified Spontaneous Emission

**BaF<sub>2</sub>** Bariumfluorid

**Boc** tert-Butyloxycarbonyl

**Boc-Pro(<sup>19</sup>F)** Boc-*cis*-F-L-Prolin

**CFCl<sub>3</sub>** Trichlorfluormethan

**CIDNP** Chemical Induced Dynamic Nuclear Polarisation

**CP** Cross Polarization (Kreuzpolarisation)

**CW** Continuous Wave

**DARR** Dipolar Assisted Rotational Resonance

**DIPEA** Diisopropylethylamin

**DMAP** 4-(Dimethylamino)pyridin

**DMF** Dimethylformamid

**DNA** Desoxyribonukleinsäure

**DNP** Dynamic Nuclear Polarization (Dynamische Kernspinpolarisation)

**DQrotreson** Double Quantum Rotational Resonance

**EDC** 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid

**EPR** Elektronenspinresonanz

**Eq** Äquivalente

**ESI** Electrospray Ionisation

**FID** Free Induction Decay (Freier Induktionszerfall)

**Fmoc** Fluorenylmethoxycarbonyl

**FSLG** Frequency Switched Lee Goldberg

**FT** Fouriertransformation

**FWHM** Full Width at Half Max (Linienbreite)

---

**Gly** Glycin  
**HATU** O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N,N-tetramethyluronium-hexafluorophosphat  
**HCl** Chlorwasserstoff  
**HETCOR** Hetero Correlation  
**HMDA** Hexamethyldiamin  
**HPC** Hydroxypropylcellulose  
**HPLC** High Pressure Liquid Chromatography  
**IUPAC** International Union of Pure and Applied Chemistry  
**MAS** Magic Angle Spinning  
**MCC** Microcrystalline Cellulose (Mikrokristalline Cellulose)  
**MS** Mass Spectrometry  
**MW** Mikrowellenstrahlung  
**NaBr** Natriumbromid  
**NaClO** Natriumhypochlorid  
**NaOH** Natriumhydroxid  
**NH<sub>4</sub>Cl** Ammoniumchlorid  
**NMR** Nuclear Magnetic Resonance (Kernspinresonanz)  
**Peptid 1** Acetyl-Pro-Ala-Phe-Gly-OH  
**Peptid 2** Acetyl-Pro(<sup>19</sup>F)-Ala-Phe-Gly-OH  
**Peptid 3** Acetyl-Pro-Ala-Phe-Gly(<sup>13</sup>C)-OH  
**PHIP** Parahydrogen Induced Polarisation  
**Pro** Prolin  
**Pro(<sup>19</sup>F)** <sup>19</sup>F-Prolin  
**REDOR** Rotational-Echo Double-Resonanz  
**SEOP** Spin Exchange Optical Pumping  
**SPPS** Solid Phase Peptide Synthesis  
**TCE** 1,1,2,2-Tetrachlorethan  
**TEMPO** 2,2,6,6 Tetramethylpiperinidylloxyl  
**TFMPCA** (6-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl) Essigsäure  
**TMS** Tetramethylsilan  
**TPPM** Two Pulse Phase Modulation  
**TSP** Trimethylsilylpropionat

# Variablenverzeichnis

Variable	Bezeichnung
$\mu$	magnetisches Moment
$\gamma$	gyromagnetisches Verhältnis
$\vec{I}$	Kernspin
$B_0$	externes statisches Magnetfeld
$\hat{H}$	Hamiltonian
$E_m$	Energieeigenwerte
$\omega_0$	Larmorfrequenz
$N$	Besetzungszahl der Energiezustände
$T$	Temperatur
$M$	Magnetisierung
$t$	Zeit
$T_1$	Spin-Gitter Relaxationszeit
$T_2$	Spin-Spin Relaxationszeit
$\sigma$	Abschirmungsfaktor
$\delta$	Formelzeichen für die ppm Skala
$S$	Spin mit dem kleineren gyromagnetischen Verhältnis
$I$	Spin mit dem größeren gyromagnetischen Verhältnis
$r_{IS}$	Distanz zwischen Spin I und Spin S
$S_{ref}$	Signalfläche ohne REDOR Pulse
$S_{REDOR}$	Signalfläche mit REDOR Pulsen
$J_k$	Besselfunktionen
$D$	dipolare Kopplungskonstante
$b_{IS}$	homonukleare dipolare Kopplungskonstante
$\Delta\omega_{split}$	Frequenzaufspaltung
$\tau_{exc}$	Anregungsintervall
$\tau_{mix}$	Mischzeit
$\omega_e$	Frequenz des EPR Übergangs
$\omega_n$	Frequenz des NMR Übergangs

# Konstanten

---

Konstante	Wert
$\hbar$	$1,05457 \cdot 10^{-34}$ Js
$k_B$	$1,38065 \cdot 10^{-23}$ J
$\gamma_{1H}$	$26,752 \cdot 10^{-7}$ As/kg
$\gamma_{19F}$	$25,181 \cdot 10^{-7}$ As/kg
$\gamma_{13C}$	$6,728 \cdot 10^{-7}$ As/kg
$\gamma_{15N}$	$-2,712 \cdot 10^{-7}$ As/kg

---

# Publikationsverzeichnis

---

Inhalte dieser Arbeit wurden bereits in den folgenden Publikationen veröffentlicht, bzw. sollen veröffentlicht werden:

[1] **Höfler, MV.**, Hoinka, N., Schäfer, T., Horn, M., Aussenac, F., Fuhrmann-Lieker, T., Gutmann, T. Light Amplification Materials Based on Biopolymers Doped with Dye Molecules—Structural Insights from  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  Solid-State Dynamic Nuclear Polarization. *The Journal of Physical Chemistry C* **2021**, 125 (39), 21550-21558

[2] **Höfler, MV.\***, Limprasart, W.\*, Rösler, L., Fleckenstein, M., Brodrecht, M., Herr, K., Schäfer, JL., Biesalski, M., Breitzke, H., Gutmann, T. Fluorine-Labeled N-Boc-L-proline as a Marker for Solid-State NMR Characterization of Biofunctionalizations on Paper Substrates. *The Journal of Physical Chemistry C* **2023**, 127 (7), 3570-3578

[3] Limprasart, W.\*, **Höfler, MV.\***, Kunzmann, N., Rösler, L., Herr, K., Breitzke, H., Gutmann, T. Peptides as Model Systems for Cellulose Based Biosensors - Synthesis and Structural Characterization by Advanced Solid-State NMR Techniques. *The Journal of Physical Chemistry C* **2023**, 127 (45), 22129–22138

[4] Hillscher, LM.\*, **Höfler, MV.\***, Gutmann, T., Lux, C., Clerkin, KU., Schwall, G., Villforth, K., Schabel, S., Biesalski, M. Influence of TEMPO-oxidation on Pulp Fiber Chemistry, Morphologie and Mechanical Paper Sheet Properties. *Cellulose* **2024**, 31, 3067-3082

[5] **Höfler, MV.**, Seelinger, D., Schäfer, T., Biesalski, M., Gutmann, T. Cross-linking of oxidized hydroxypropyl cellulose revisited by DNP enhanced  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  solid-state NMR. In preparation

\*geteilter Erstautor

**Weitere Publikationen:**

[6] Klintuch, D., **Höfler, MV.**, Wissel, T., Bruhn, C., Gutmann, T., Pietschnig, R. Trifunctional Silyl Groups as Anchoring Units in the Preparation of Luminescent Phosphore–Silica Hybrids. *Inorganic Chemistry* **2021**, 60 (18), 14263-14274

[7] Herr, K., Fleckenstein, M., Brodrecht, M., **Höfler, MV.**, Heise, H., Aussenac, F., Gutmann, T., Reggelin, M., Buntkowsky, G. A Novel Strategy for Site Selective Spin-Labeling to Investigate Bioactive Entities by

---

DNP and EPR Spectroscopy. *Scientific Reports* **2021**, 11, 13714

[8] Dey, S., Kargin, D., **Höfler, MV.**, Szathmári, B., Bruhn, C., Gutmann, T., Kelemen, Z., Pietschnig, R. Oligo- and Polymerization of Phospha[2]ferrocenophanes to One Dimensional Phosphorus Chains with Ferrocenylene Handles. *Polymer* **2022**, Volume 242, 124589

[9] Dey, S., Roesler, F., **Höfler, MV.**, Bruhn, C., Gutmann, T., Pietschnig, R. Synthesis, Structure and Cu-Phenylacetylide Coordination of an Unsymmetrically Substituted Bulky dppf-Analog *European Journal of Inorganic Chemistry* **2022**, e202100939

[10] Rösler, L., **Höfler, MV.**, Breitzke, H., Wissel, T., Herr, K., Heise, H., Gutmann, T., Buntkowsky, G. Dirhodium Complex Immobilization on Modified Cellulose for Highly Selective Heterogeneous Cyclopropanation Reactions. *Cellulose* **2022**, 29, 6283–6299

[11] Krusenbaum, A., Kraus, F.J.L., Hutsch, S., Grätz, S., **Höfler, MV.**, Gutmann, T., Borchardt, L., The Rapid Mechanochemical Synthesis of Microporous Covalent Triazine Networks: Elucidating the Role of Chlorinated Linkers by a Solvent-Free Approach. *Advanced Sustainable Systems* **2023**, 7, 2200477

[12] Krusenbaum, A., Geisler, J., Kraus, F. J. L., Grätz, S., **Höfler, MV.**, Gutmann, T., Borchardt, L. The Mechanochemical Friedel-Crafts Polymerization as a Solvent-Free Cross-Linking Approach Toward Microporous Polymers *Journal of Polymer Science* **2022**, 60 (1), 62

[13] Kresse, B., **Höfler, MV.**, Privalov, A.F., Vogel, M. Evaporation of Sessile Binary Mixture Droplets: Time Dependence of Droplet Shape and Concentration Profile from One-Dimensional Magnetic Resonance Microscopy *Langmuir* **2021**, 37 (46), 13576-13583

[14] Herr, K., **Höfler, MV.**, Heise, H., Aussenac, F., Kornemann, F., Rosenberger, D., Brodrecht, M., Gutmann, T., Buntkowsky, G. Novel tailored Peptide based Biradicals for Dynamic Nuclear Polarisation in Biocompatible Media. Under Revision

[15] Hutsch, S., Leonard, A., Grätz, S., **Höfler, MV.**, Gutmann, T., Borchardt, L. Mechanochemical Cyclo-trimerization: A Versatile Tool to Covalent Organic Frameworks with Tunable Stacking Mode. Under Revision

---

## Konferenzbeiträge:

- 26.03-29.03.2023 AK-Treffen 2023, Rostock, Deutschland. Vortrag: "DNP Enhanced Solid-State NMR of Functionalized Biopolymers"
- 14.10.2020 FIPRE Project Meeting, online. Vortrag: "Development of DNP Enhanced Solid-State NMR Techniques for Functionalized Cellulose-Based Materials"
- 27.09-01.10.2021 42. FGMR Annual Discussion Meeting, online. Posterpräsentation: "Investigation of Light Amplification Materials based on Biopolymers by using Solid state Dynamic Nuclear Polarization NMR"
- 23.03-25.03.2022 33. Deutsche Zeolith Tagung, Frankfurt, Deutschland. Posterpräsentation: "Investigation of Light Amplification Materials based on Biopolymers by Solid-State Dynamic Nuclear Polarization NMR"
- 19.06-25.06.2022 Ampere NMR school, Zakopane, Polen. Posterpräsentation: "Functionalization of Biopolymer with Small Molecules as Models for Solid-State NMR Investigations"

---

# Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Zuerst gilt mein Dank apl. Prof. Dr. Torsten Gutmann, der diese Doktorarbeit betreut und begutachtet hat, für die fachliche Unterstützung und konstruktiven Diskussionen.

Außerdem möchte ich mich bei Prof. Dr. Gerd Buntkowsky bedanken, der es mir ermöglicht hat an seinen Spektrometern zu arbeiten und mich in seine Gruppe mit eingegliedert hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei Dr. Hergen Breitzke bedanken, der mir bei technischen Fragen stets weitergeholfen hat und sich bei Problemen immer Zeit genommen hat.

Mein Dank gilt ebenso den Leuten, die bei den verschiedenen Projekten mitgearbeitet haben und mich bei Synthesen unterstützt haben. Für das Projekt der chemischen Modifizierung möchte ich David Seelinger und Laura Hillscher danken. Bei dem Projekt der Biofunktionalisierung möchte ich mich bei Waranya Limprasart, Lorenz Rösler, Martin Brodrecht, Kevin Herr, Max Fleckenstein, Nico Kunzmann, Luca Walcher und Jan-Lukas Schäfer bedanken. Für das Projekt der Farbstofffunktionalisierung durfte ich mit Timmy Schäfer, Marilia Horn und Nicolai Hoinka zusammenarbeiten, denen mein Dank gilt.

Ebenso möchte ich mich bei Kooperationspartnern bedanken, deren Arbeiten nicht direkt in diese Arbeit mit eingeflossen sind. Das sind Annika Krusenbaum, Dieter Klintuch, Subhayan Dey, Felix Schäfer, Johannes Klitsch, Bastian Brehm, Joanna Mikolei, Frank Hartmann, Florian Frieß, Lea Gemmer.

Ein weiterer Dank gilt Dr. Fabien Aussenac und Prof. Dr. Henrike Heise, die es ermöglicht haben, bei ihnen Messungen durchzuführen.

Auch möchte ich mich bei der Arbeitsgruppe bedanken, die die Zeit hier sehr angenehm gemacht haben, im speziellen soll hierbei Till Wissel sowie mein Büro mit Jonas Lins, Franziska Theiß und Sonja Döller erwähnt sein.

Zuletzt gilt mein herzlicher Dank an alle meine Freunde und meine Familie und ganz besonders Larissa, die mir den Rücken gestärkt haben und mich motiviert haben diese Arbeit anzufertigen.

---

# Anhang

---

## Chemische Modifizierung

### TEMPO oxidierte Baumwollfasern

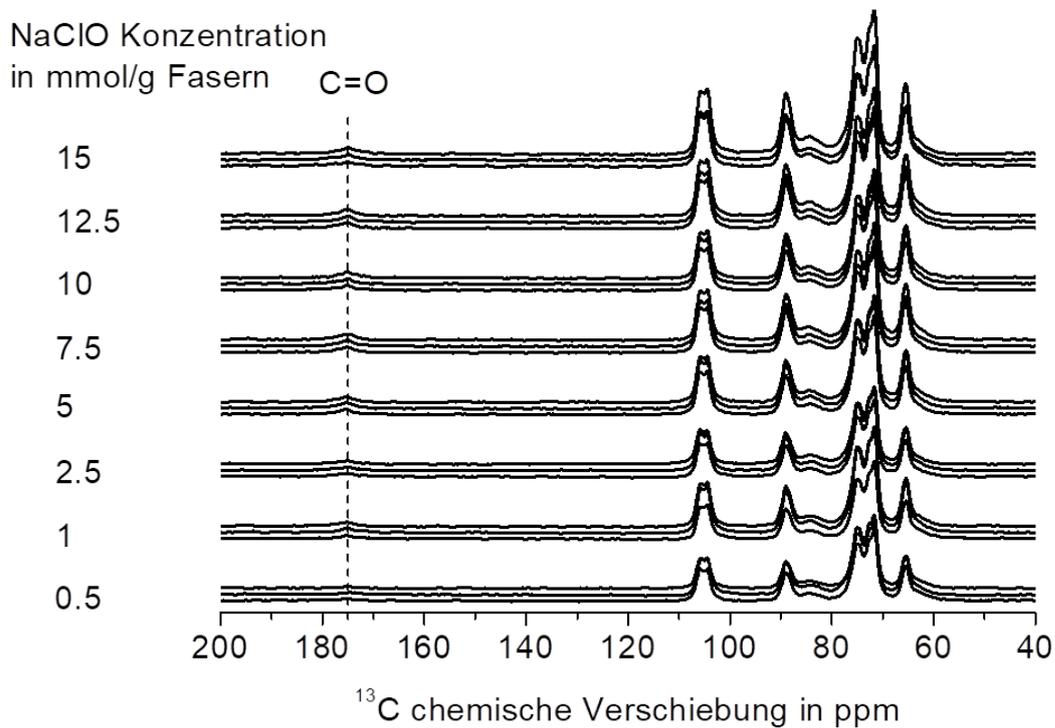


Abbildung 6.21:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren der TEMPO oxidierten Fasern gemessen für verschiedene NaClO Konzentrationen zwischen 0,5-15 mmol/g. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

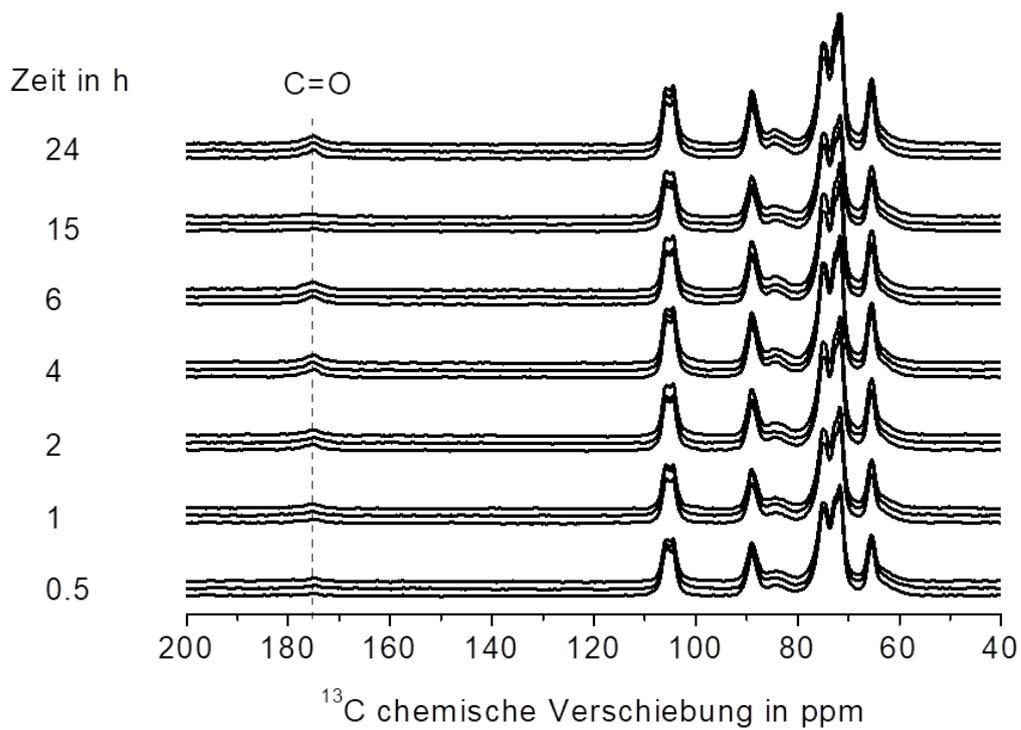


Abbildung 6.22:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren der TEMPO oxidierten Fasern gemessen für verschiedene Reaktionszeiten zwischen 0,5-24 h. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

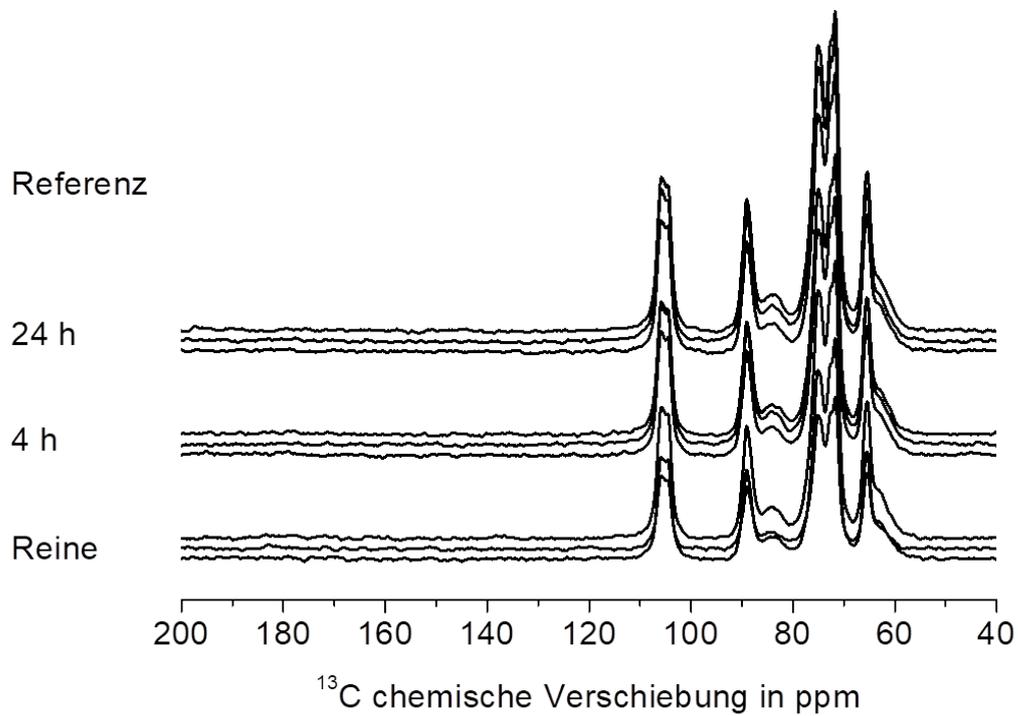


Abbildung 6.23:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren der Referenz Fasern behandelt mit NaOH bei einem pH-Wert von 10,5 für 4 und 24 h, sowie die unbehandelte Blindprobe. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 7,05 T aufgenommen. Adaptiert von [4] (Publikationsliste)

## Vernetzte Hydroxypropylcellulose

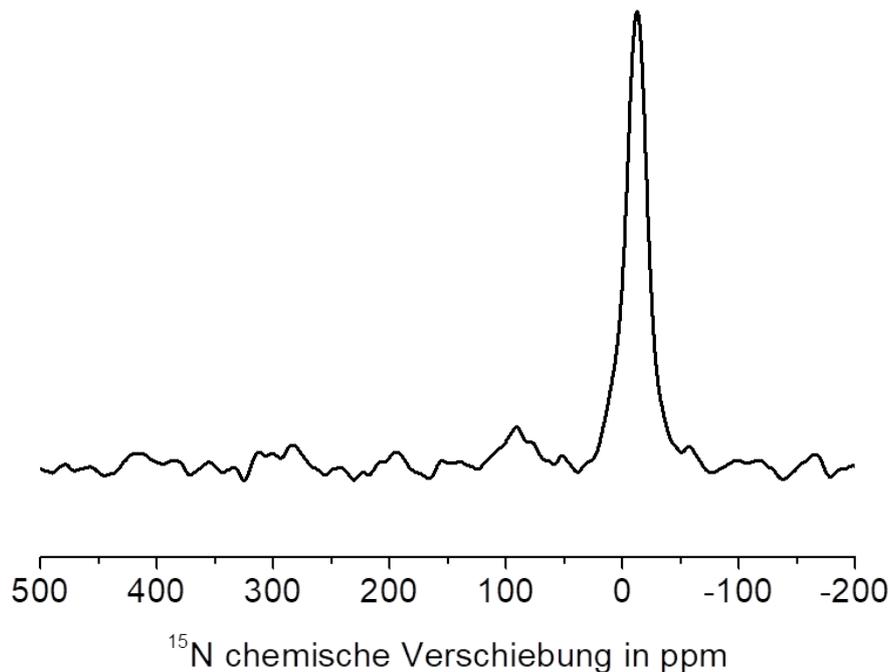


Abbildung 6.24:  $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$  CP MAS DNP Spektrum von oxidiertem HPC mit HMDA imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix. Das Spektrum wurde mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

## Farbstofffunktionalisierung von Biopolymeren

Tabelle 6.4: Verstärkungsfaktoren für Cellulose- und Glycerolsignale der Proben **2a** und **3a**.

Chemische Verschiebung in ppm	Zuordnung	Verstärkungsfaktoren für 2a	Verstärkungsfaktoren für 3a
102,7	C <sub>1</sub>	91±5	121±16
86,7	kr. C <sub>4</sub>	87±7	140±27
80,6	am. C <sub>4</sub>	78±12	114±38
72,2	C <sub>2,3,5</sub>	87±2	123±8
70	Glycerol + C <sub>2,3,5</sub>	90±2	126±6
62,7	C <sub>6</sub>	88±4	120±11
60,2	Glycerol + C <sub>6</sub>	86±4	116±10

Tabelle 6.5: Verstärkungsfaktoren für verschiedene Signale der Proben **4a** und **5a**. N/D bezieht sich auf nicht definierte Verstärkungen.

Chemische Verschiebung in ppm	Zuordnung	Verstärkungsfaktoren für 5a	Verstärkungsfaktoren für 4a
179,5	C=O	65±44	85±79
172,5	C=O	N/D	N/D
101	C <sub>1</sub>	65±30	N/D
96	C <sub>1</sub>	65±33	70±20
72	Glycerol + C <sub>5</sub>	69±6	83±6
60	Glycerol + C <sub>6</sub>	71±6	83±5
21,5	CH <sub>3</sub>	55±19	77±18

Tabelle 6.6: <sup>1</sup>H Aufbauzeiten T<sub>B</sub> für die Proben **1a**, **2a**, **3a**, **4a** und **5a**.

Probe	Aufbauzeit T <sub>B</sub> in s
<b>1a</b>	20,8
<b>2a</b>	2,3
<b>3a</b>	2,8
<b>4a</b>	3
<b>5a</b>	3

Tabelle 6.7: <sup>13</sup>C chemische Verschiebung (ppm relativ zu TMS) für Calcofluor White in den Proben **1a**, **3a** und **5a**.

Probe 1a	Probe 3a	Probe 5a
160	162	162
136,5	138,5	139
127,5	127,5	127
122,5	120,5	121
118	116	116,5

Tabelle 6.8: <sup>15</sup>N chemische Verschiebung (ppm relativ zu NH<sub>3</sub>) für Calcofluor White in den Proben **1a**, **3a** und **5a**.

Probe 1a	Probe 3a	Probe 5a
178	179,5	180,5
167,5		
112,5	114,5	116,5
91,5	94,5	90,5

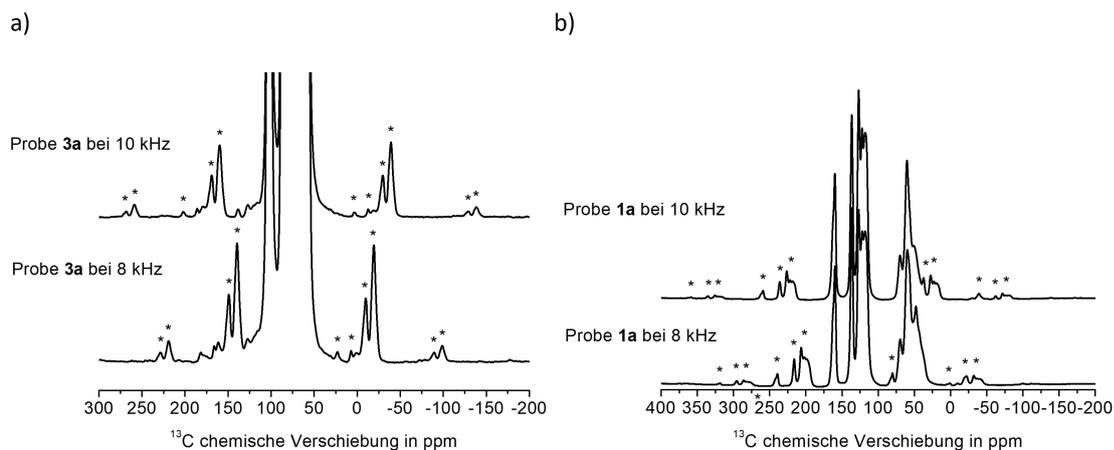


Abbildung 6.25: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von a) kalligraphischem Papier imprägniert mit Calcofluor White (Probe **3a**) und b) Calcofluor White (Probe **1a**), beide imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w), aufgenommen bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und 10 kHz und einem Feld von 9,4 T. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (\*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

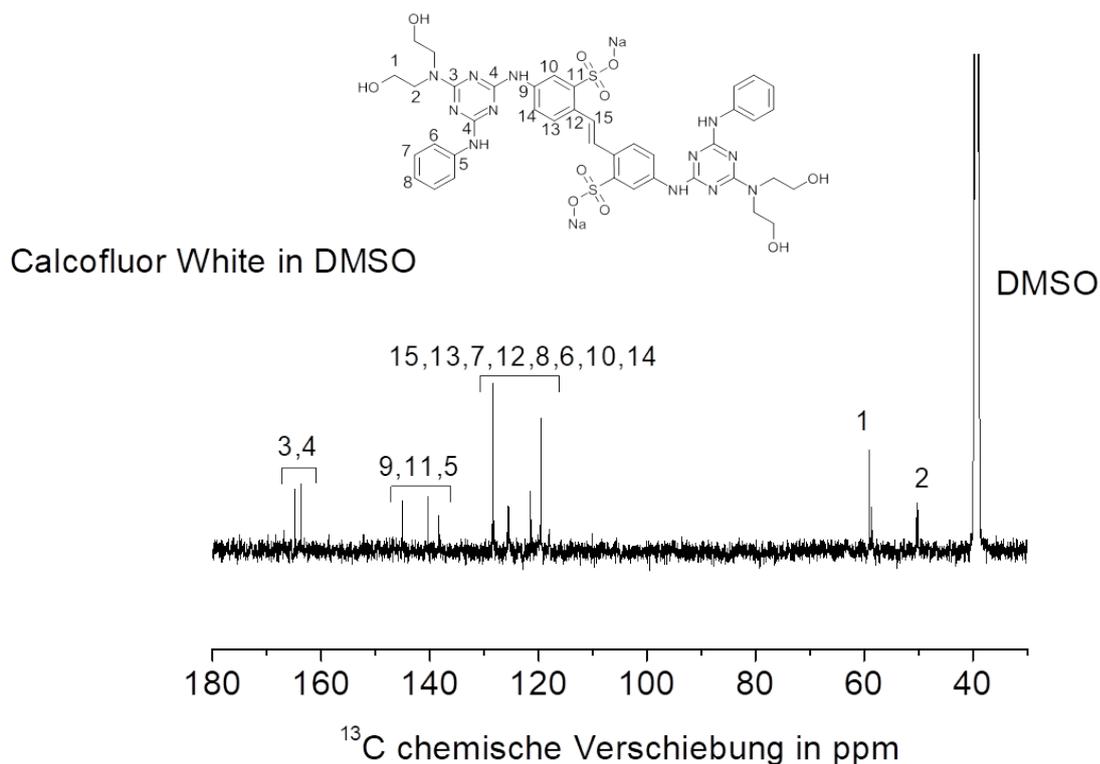


Abbildung 6.26:  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum von Calcofluor White (Probe **1**) gelöst in  $\text{DMSO-}d_6$  aufgenommen an einem 500 MHz Spektrometer und die zugehörige Zuordnung der Kohlenstoffatome des Calcofluor White. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

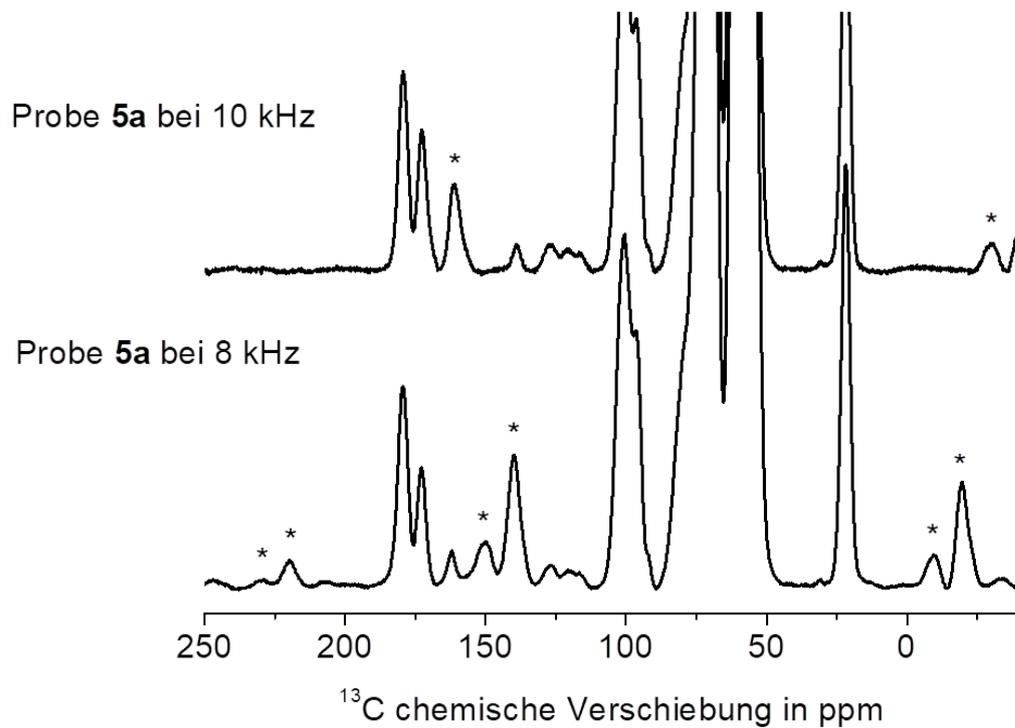


Abbildung 6.27: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren des Chitosans imprägniert mit Calcofluor White und einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) (Probe **5a**) aufgenommen bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und 10 kHz und einem Feld von 9,4 T. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (\*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

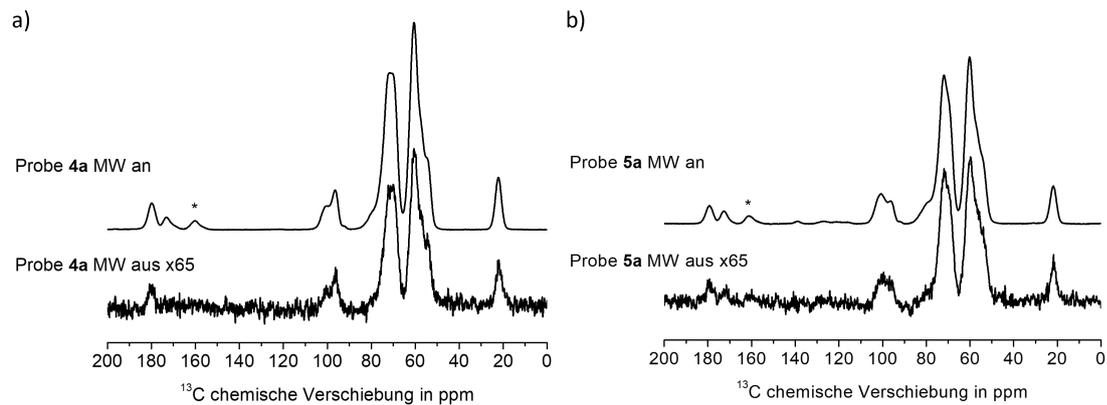


Abbildung 6.28:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von a) Chitosan (Probe **4a**) und b) Chitosan imprägniert mit Calcofluor White (Probe **5a**), beide imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Lösung in Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w). Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T mit und ohne MW aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit einem Sternchen (\*) markiert. Zum besseren Vergleich sind die Spektren ohne MW um den Faktor 65 vergrößert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

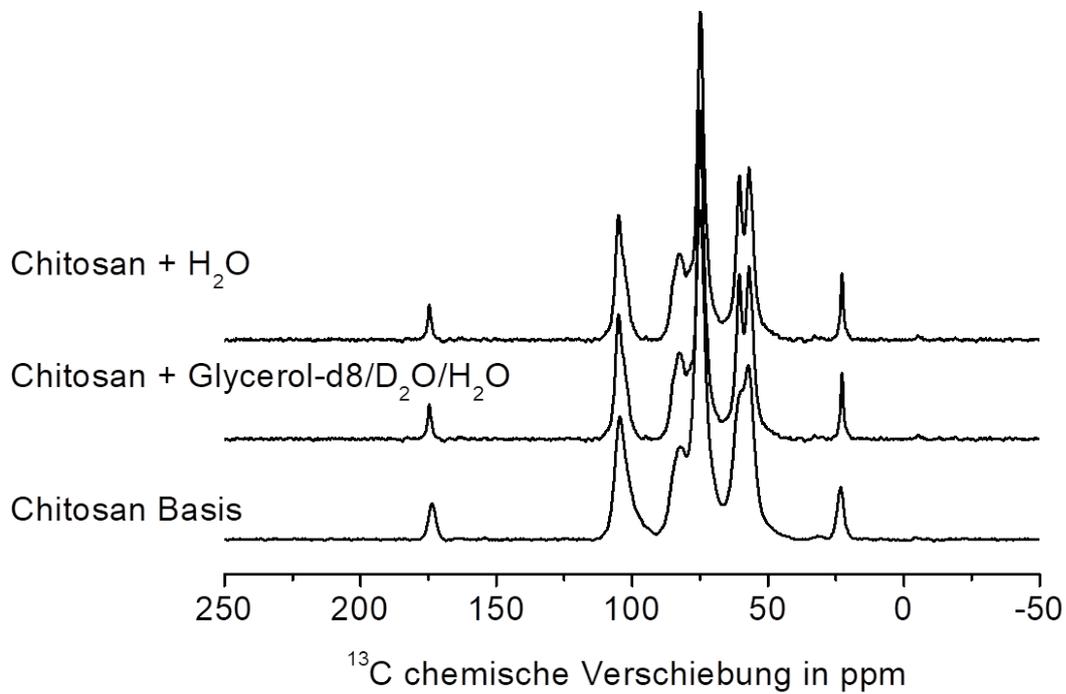


Abbildung 6.29:  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von purem Chitosan, wie es von Sigma-Aldrich bezogen wurde (Probe **6**), zusätzlich imprägniert mit Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) (Probe **6b**) bzw. imprägniert mit Wasser (Probe **6c**). Die Spektren wurden bei einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und einem Feld von 9,4 T bei Raumtemperatur aufgenommen. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

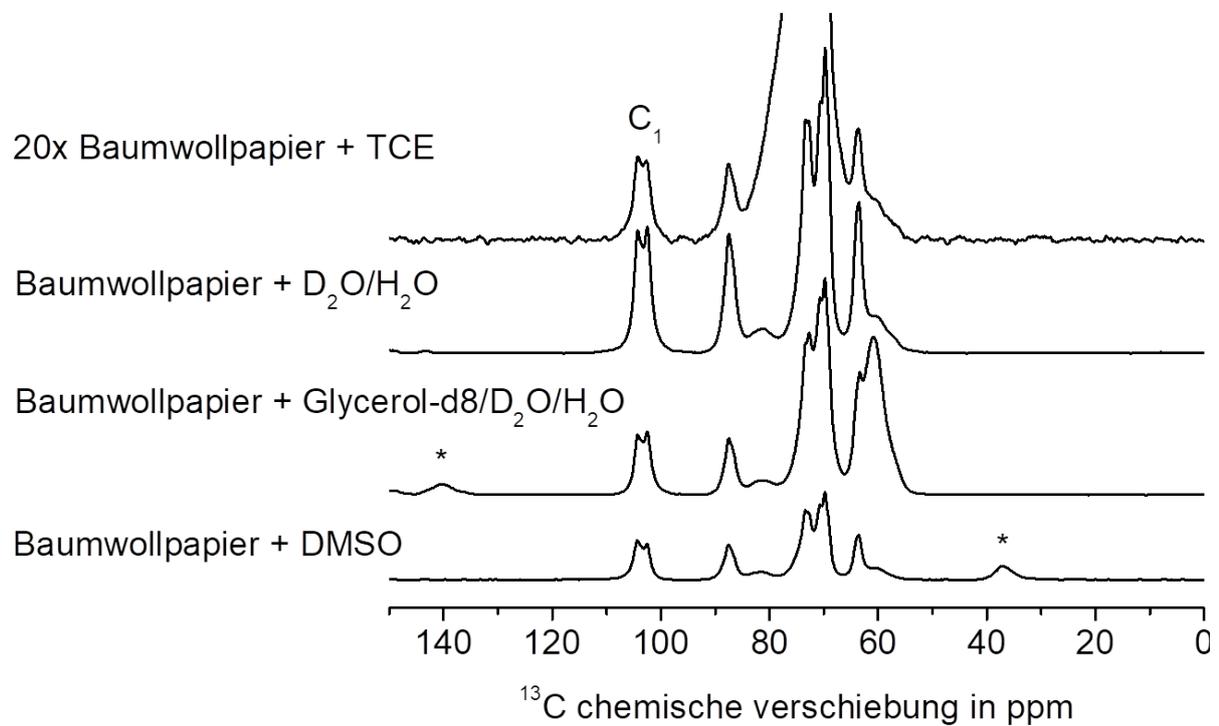


Abbildung 6.30: DNP verstärkte  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektren von Baumwollpapier imprägniert mit unterschiedlichen DNP Matrizen. Für die TCE Matrix wurde TEKPol als Radikal in einer 15 mM Konzentration und für alle anderen Matrizen wurde AMUPol in einer 15 mM Konzentration verwendet. Dabei wurden 16 mg der Baumwollpapiere mit 16  $\mu\text{l}$  der DNP Matrix imprägniert. Alle Spektren wurden in Wissembourg bei 9,4 T, einer Rotationsfrequenz von 8 kHz und mit 32 Scans aufgenommen. Rotationsseitenbanden sind mit Sternchen (\*) markiert. Adaptiert von [1] (Publikationsliste)

---

## Biofunktionalisierung von Cellulose basierten Materialien

### Glycinfunktionalisierung auf Papieren und MCC

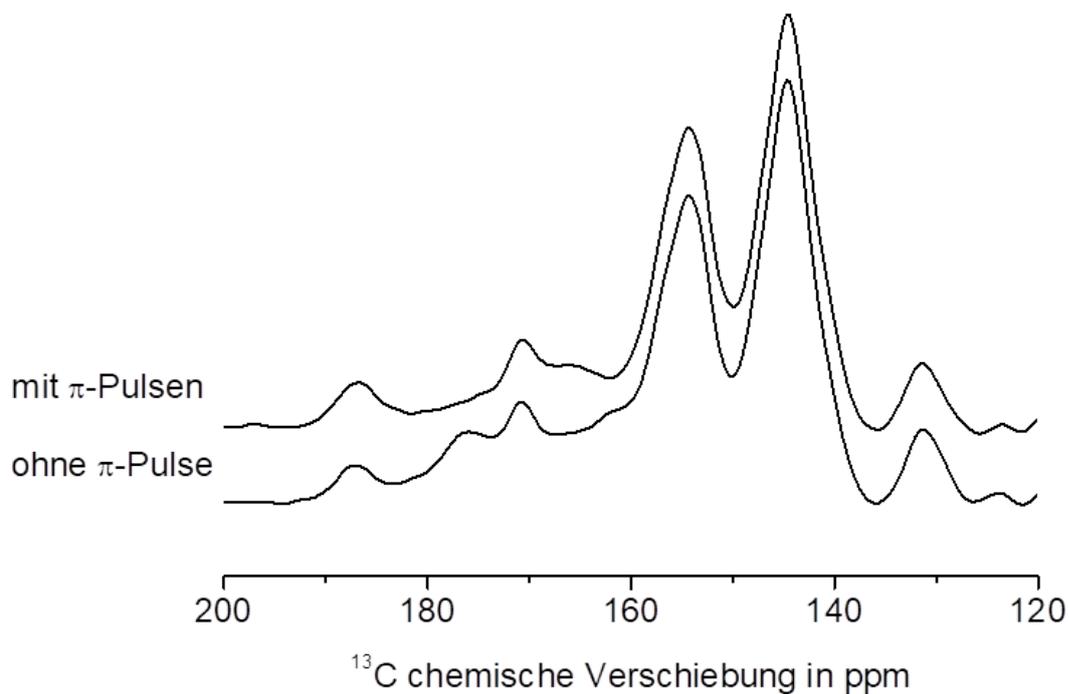


Abbildung 6.31: DNP verstärkte  $^{13}\text{C}\{^{15}\text{N}\}$  REDOR Spektren von  $^{15}\text{N}$  markiertem Fmoc-Glycin funktionalisiertem Papier imprägniert mit einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix. Das dephasierende Signal ist bei 173 ppm zu sehen. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 8 kHz bei einem Feld von 9,4 T aufgenommen.

## Prolinfunktionalisierung auf Papieren

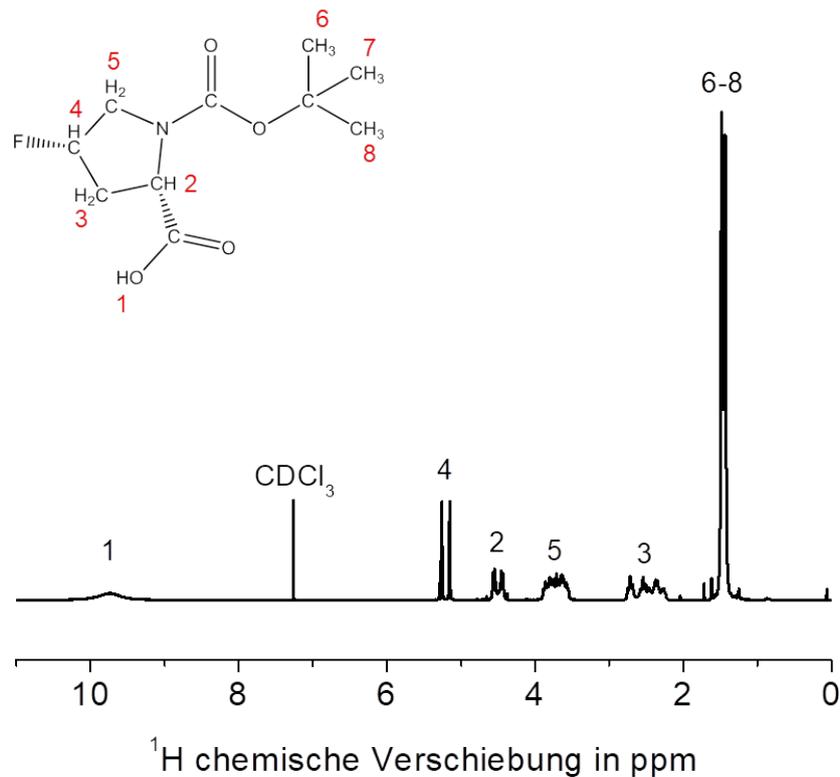


Abbildung 6.32: <sup>1</sup>H Flüssig NMR Spektrum von Boc-Pro(<sup>19</sup>F) in CDCl<sub>3</sub>. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

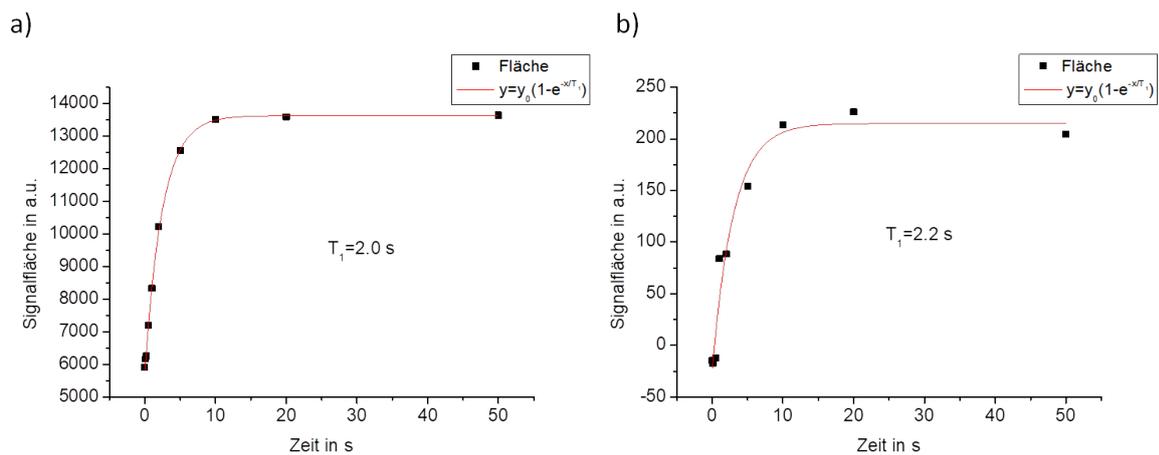


Abbildung 6.33: Aufbaukurven der <sup>19</sup>F Magnetisierung aufgenommen mit einem Saturation Recovery Experiment von a) TFMPCA und b) 4:1 Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Papier und dazugehörige  $T_1$  Fits. Um die Fläche jedes Datenpunktes zu bestimmen wurde das Spektrum im Bereich von a) -41 bis -58 ppm und von b) -147 bis -176 ppm integriert. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

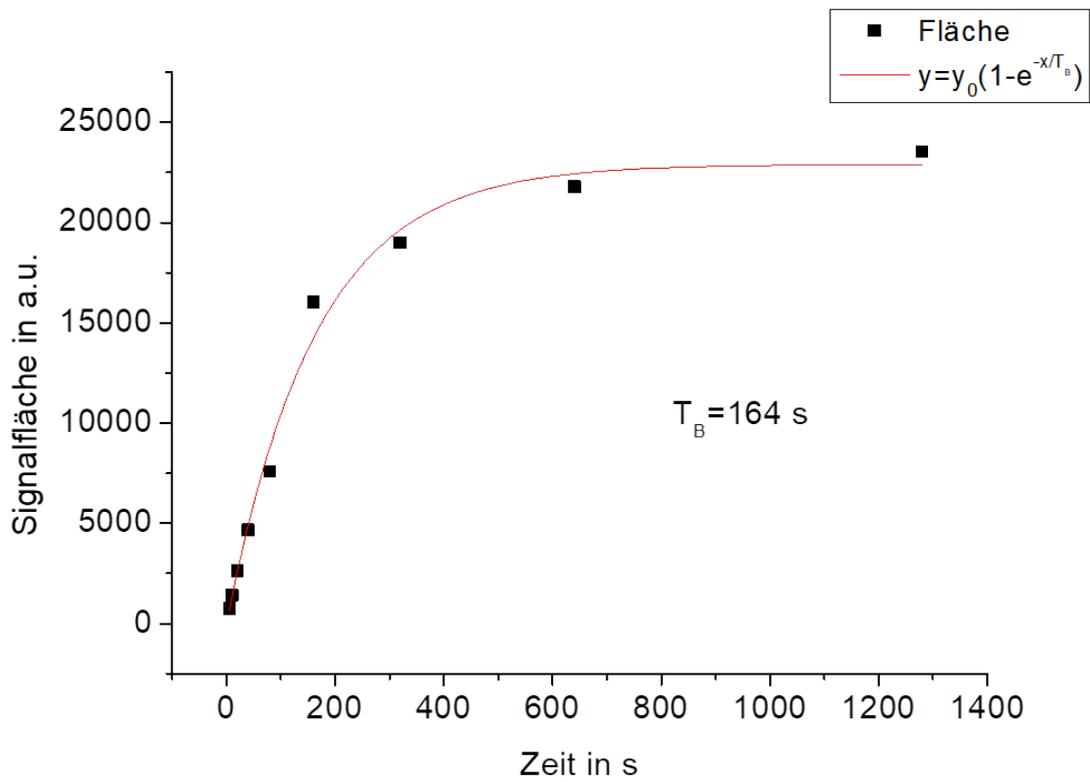


Abbildung 6.34: DNP verstärkte  $^{19}\text{F}$  Festkörper NMR Aufbaukurve des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) mit einem Fit zur Bestimmung von  $T_B$ . Um die Fläche für jeden Datenpunkt zu bestimmen wurde das Spektrum im Bereich von -603 bis 118 ppm integriert. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

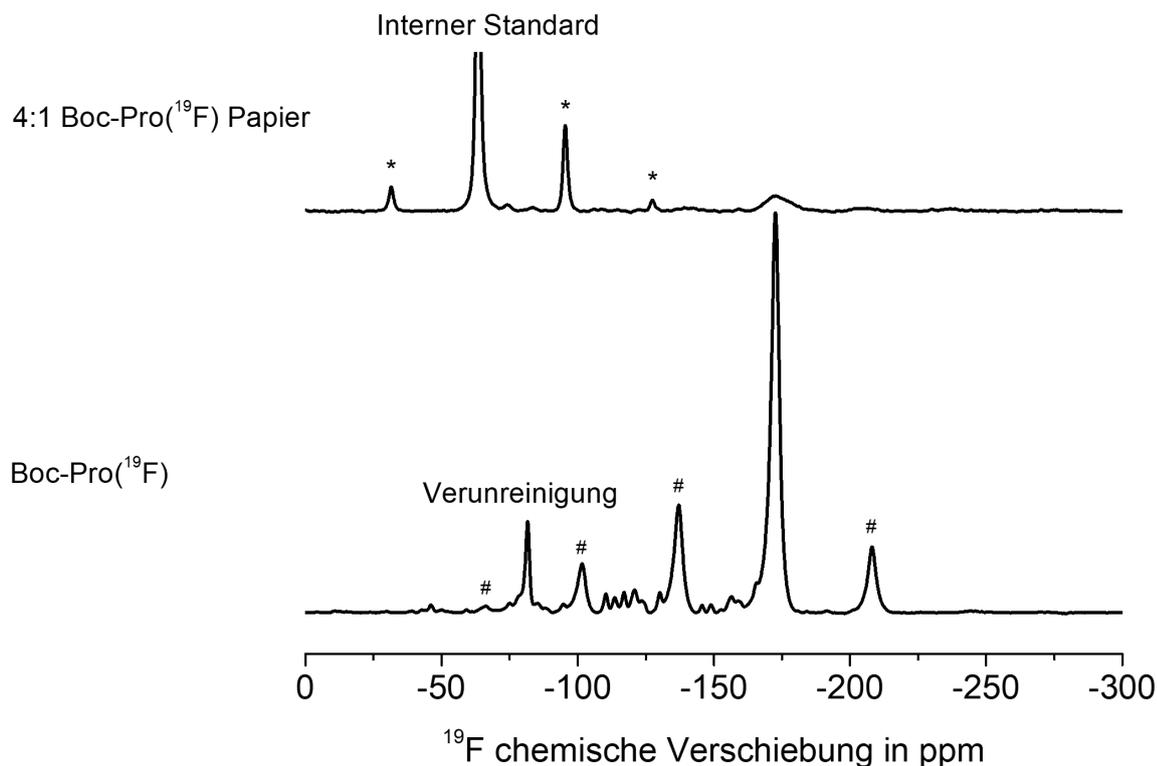


Abbildung 6.35:  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren von 4:1 Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) funktionalisiertem Papiermaterial und reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ). Die Spektren wurden auf ihre maximale Peakintensität normiert. Sternchen (\*) zeigen Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA und Rauten (#) Rotationsseitenbanden des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) bei -171,5 ppm an. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

#### Quantifizierung des funktionalisierten Papiermaterials mit Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) mittels Festkörper NMR

Die Menge der Funktionalisierung auf dem Papiermaterial wurde aus  $^{19}\text{F}$  Festkörper NMR Messungen berechnet. Dabei wurde 5-(trifluoromethyl)pyridine-2-carbonsäure (TFMPCA) als interner Standard verwendet, welches ein  $^{19}\text{F}$  Signal bei etwa -63 ppm aufweist. Im Vergleich dazu erscheint das Signal des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) bei etwa -171,5 ppm, sodass die isotropen Signale und die Rotationsseitenbanden beider Signale bei einem Magnetfeld von 14,1 T und einer Rotationsfrequenz von 18 kHz nicht überlagern. Das Integral über das Signal ist proportional zu den aktiven  $^{19}\text{F}$  Kernen in der Probe. Somit lässt sich der Fluorgehalt wie folgend beschrieben berechnen.

Die Massen der Probe ( $m_{\text{Probe}}$ ), des TFMPCA ( $m_{\text{TFMPCA}}$ ) und des leeren Rotors ( $m_{\text{LR}}$ ) wurden bestimmt. Anschließend wurde die Mischung aus Probe und TFMPCA in einen 3,2 mm  $\text{ZrO}_2$  Rotor gepackt und die Masse des vollen Rotors ( $m_{\text{VR}}$ ) bestimmt. Alle erhaltenen Massen für die verschiedenen Proben sind in Tabelle 6.9 aufgeführt.

Tabelle 6.9: Bestimmte Massen für die Quantifizierung.

Probe	$m_{Probe}$	$m_{TFMPCA}$	$m_{LR}$	$m_{VR}$	$m_{IR}$	$m_{IR-TFMPCA}$	$m_{IR-Probe}$
4:1 DIPEA-HATU	18,37	1,02	393,58	412,40	18,82	0,99	17,83
2:1 ohne	19,08	1,03	393,63	412,93	19,30		
4:1 EDC·HCl	15,88	0,98	516,41	532,87	16,46	0,96	1550
2:1 EDC·HCl	11,91	0,88	516,43	528,68	12,25	0,84	11,41
1:1 EDC·HCl	20,32	0,95	393,66	414,42	2076	0,93	19,83
0,5:1 EDC·HCl	15,40	0,91	517,29	533,25	15,96	0,89	15,07

Jede Masse der präparierten Mischungen ( $m_{mix}$ ) wird aus der Summe der Masse der Probe ( $m_{Probe}$ ) und der Masse des TFMPCA ( $m_{TFMPCA}$ ) berechnet.

$$m_{mix} = m_{TFMPCA} + m_{Probe} \quad (6.3)$$

Die Masse der Mischung im Rotor  $m_{IR}$  wird folgendermaßen berechnet

$$m_{IR} = m_{VR} - m_{LR} \quad (6.4)$$

Mit diesen Werten kann die Masse des TFMPCA im Rotor ( $m_{IR-TFMPCA}$ ) sowie die Masse der Probe im Rotor ( $m_{IR-Probe}$ ) berechnet werden.

$$m_{IR-TFMPCA} = m_{IR} \cdot \frac{m_{TFMPCA}}{m_{mix}} \quad (6.5)$$

$$m_{IR-Probe} = m_{IR} \cdot \frac{m_{Probe}}{m_{mix}} \quad (6.6)$$

Mit diesen Werten kann die Stoffmenge des TFMPCA im Rotor berechnet werden

$$n_{IR-TFMPCA} = \frac{m_{IR-TFMPCA}}{M_{TFMPCA}} \quad (6.7)$$

wobei  $M_{TFMPCA} = 191,11$  g/mol das Molekulargewicht von TFMPCA ist.

Um die Menge an TFMPCA in die Menge des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) in der Probe im Rotor umzurechnen, müssen die <sup>19</sup>F Spektren integriert werden. Die gesamte Fläche des TFMPCA Signals ( $A_{TFMPCA}$ ) wird durch Integration in den Bereichen von -10,9 bis -22,8 ppm, -39,6 bis -64,9 ppm, -74,2 bis -87 ppm und -106,4 bis -117,3 ppm und anschließende Summation erhalten. Auf die gleiche Weise wird die Fläche des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Signals ( $A_{Boc-Pro(^{19}F)}$ ) durch Integration in den Bereichen von -117,3 bis -137,4 ppm, -150,3 bis -171 ppm und -182,4 bis -202,7 ppm errechnet. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 6.10 notiert.

Tabelle 6.10: Absolute Fläche des TFMPA und Boc-Pro(<sup>19</sup>F) Signals in den <sup>19</sup>F MAS Spektren.

Probe	$A_{TFMPCA}$	$A_{\text{Boc-Pro}^{(19}\text{F})}$
4:1 DIPEA-HATU	23098,36	1825,23
2:1 ohne		kein Signal
4:1 EDC·HCl	13336,42	2450,15
2:1 EDC·HCl	14221,07	1256,36
1:1 EDC·HCl	104448,29	2943,5
0,5:1 EDC·HCl	26304,49	115,79

Damit lässt sich die Menge des TFMPA in eine Menge der Probe im Rotor mittels

$$n_{IR-\text{Boc-Pro}^{(19}\text{F})} = n_{TFMPCA} \cdot \frac{A_{\text{Boc-Pro}^{(19}\text{F})}}{\frac{1}{3}A_{TFMPCA}} \quad (6.8)$$

konvertieren. Der Umrechnungsfaktor  $\frac{1}{3}$  muss inkludiert werden, da TFMPA drei Äquivalente <sup>19</sup>F Kerne enthält, wohingegen Boc-Pro(<sup>19</sup>F) nur einen <sup>19</sup>F Kern pro Einheit enthält. Alle berechneten Werte sind in Tabelle 6.11 aufgeführt.

Tabelle 6.11: Bestimmte Massen für die Quantifizierung.

Probe	$m_{mix}$ in mg	$m_{IR}$ in mg	$m_{IR-TFMPCA}$ in mg	$m_{IR-Probe}$ in mg	$n_{IR-TFMPCA}$ in $10^{-6}$ mol	$n_{\text{Boc-Pro}^{(19}\text{F})}$ in $10^{-6}$ mol
4:1 DIPEA-HATU	19,39	18,82	0,99	17,83	5,18	1,23
2:1 ohne	20,11	19,3				
4:1 EDC·HCl	16,86	16,46	0,96	15,50	5,01	2,76
2:1 EDC·HCl	12,79	12,25	0,84	11,41	4,41	1,17
1:1 EDC·HCl	21,27	20,76	0,93	19,83	4,85	0,41
0,5:1 EDC·HCl	16,31	15,96	0,89	15,07	4,66	0,06

Als letzter Schritt muss noch der Fluorgehalt und somit die Beladung der Probe berechnet werden, indem die Menge des Boc-Pro(<sup>19</sup>F) durch die Menge der Probe im Rotor dividiert wird.

$$\text{Beladung} = \frac{n_{\text{Boc-Pro}^{(19}\text{F})}}{m_{IR-Probe}} \quad (6.9)$$

Die errechneten Beladungen für die verschiedenen Proben sind in Tabelle 6.12 notiert.

Tabelle 6.12: Berechnete Beladungen der Proben.

Probe	Beladung in $\mu\text{mol/g}$	Fehler der Beladung in $\mu\text{mol/g}$
4:1 DIPEA-HATU	68,9	3,8
4:1 EDC·HCl	178,0	7,6
2:1 EDC·HCl	102,5	8,3
1:1 EDC·HCl	20,7	2,1
0,5:1 EDC·HCl	4,1	3,5

Der Fehler der Beladung wurde mit der Gauss'schen Fehlerfortpflanzung berechnet, wobei ein Wägefehler von 0,01 mg und ein Fehler von 100 für die integrierten Spektren angenommen wurde.

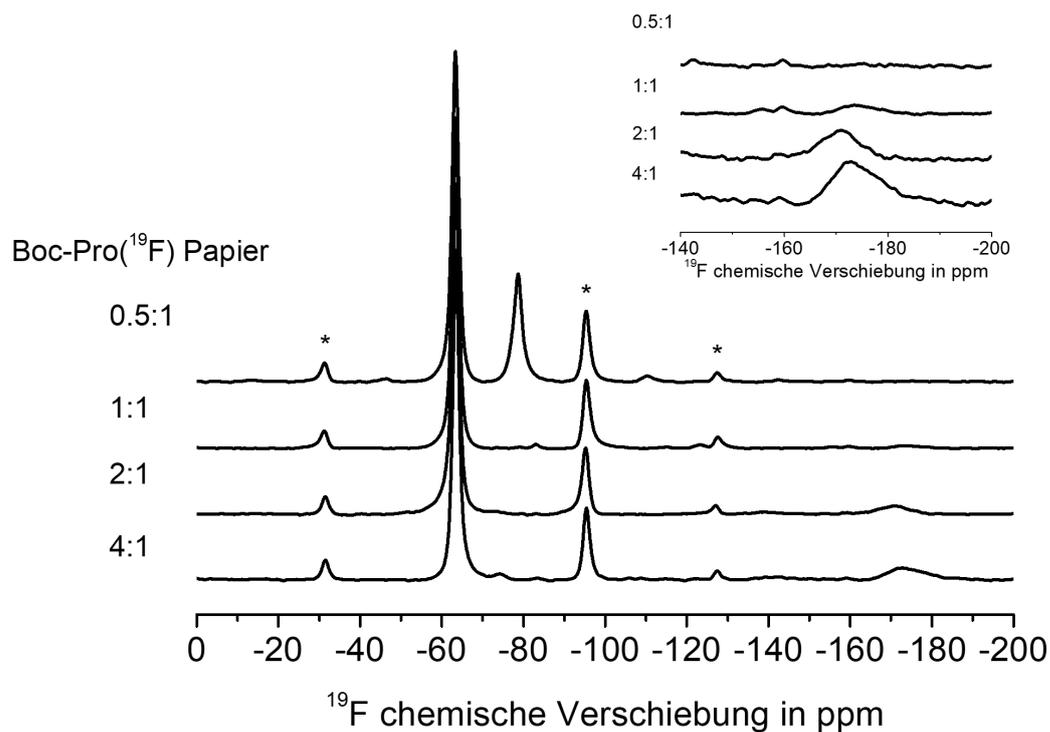


Abbildung 6.36: Quantitative  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektren des funktionalisierten Papiermaterials, präpariert mit verschiedenen Äquivalenten des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (4:1, 2:1, 1:1, 0,5:1). Die Spektren wurden auf ihre maximale Intensität normiert. Anmerkung: Sternchen (\*) markieren die Rotationsseitenbanden des internen Standards TFMPCA. Der zusätzliche Peak bei -78 ppm im Spektrum der 0,5:1 Probe stammt von  $\text{LiNTF}_2$  Rückständen im Rotor, was die quantitative Messung jedoch nicht beeinflusst. Die Rotationsseitenbanden dieses Signals sind mit einem Plus (+) markiert. Spektren wurden mit einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T aufgenommen. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

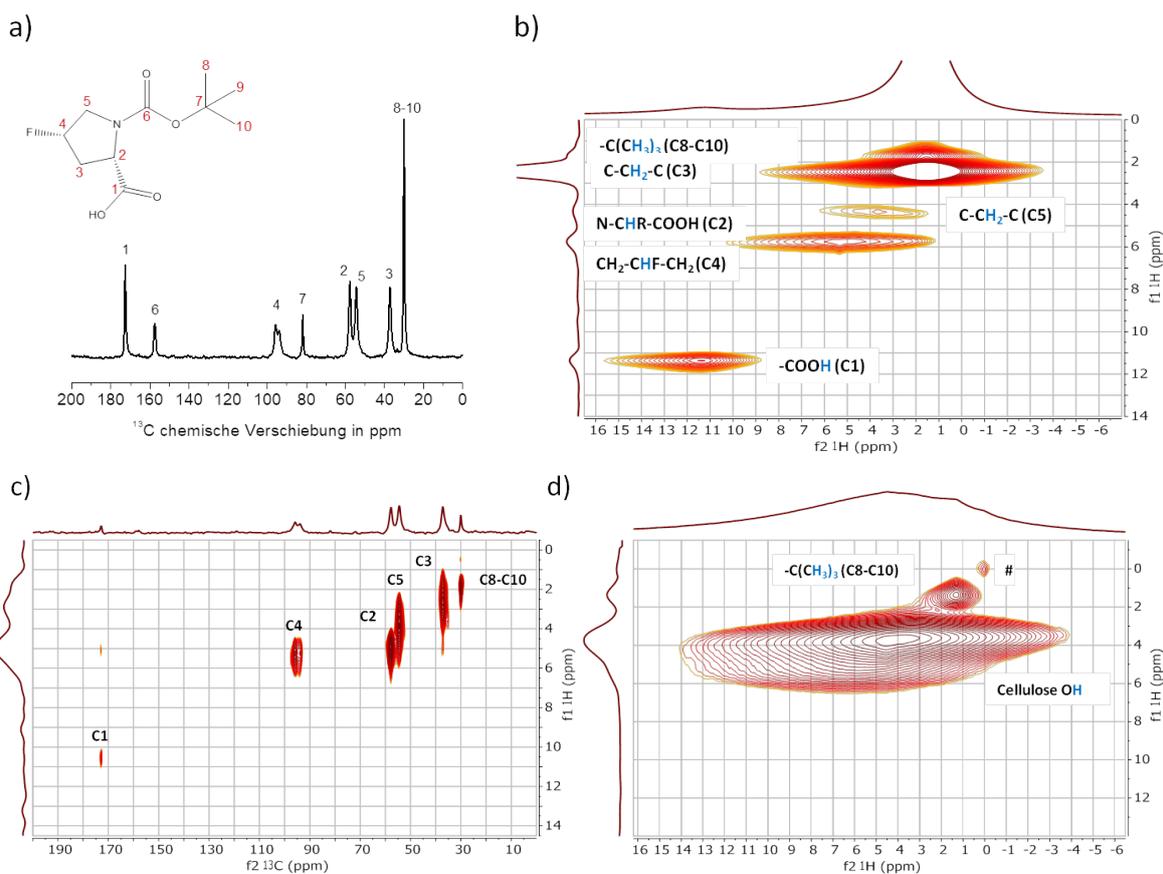


Abbildung 6.37: a)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ), b)  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ), c)  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) und d)  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG Spektrum der 4:1 EDC-HCl Probe. Anmerkung: Die Proben wurden unter Vakuum vor der Messung getrocknet um eine Überlagerung mit dem  $^1\text{H}$  Signal des Wassers zu vermeiden. Das Doublet des Signals des Kohlenstoffes 4 stammt von der  $J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C})$  Kopplung und liegt im Bereich von 190 Hz[194], was sichtbar ist, da das Spektrum ohne  $^{19}\text{F}$  Entkopplung gemessen wurde. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)

Das  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (Abbildung 6.37a) wurde aufgenommen, um die  $^{13}\text{C}$  Signale der Kohlenstoffe 1-10 in Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zuzuordnen. Das  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG Spektrum von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (Abbildung 6.37b) wurde verwendet um die  $^1\text{H}$  indirekte Dimension (f1 Dimension) des FSLG HETCOR Spektrums zu referenzieren. Die Zuordnung der Protonensignale wurde anhand der  $^1\text{H}$  Flüssig NMR Spektren des Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (Abbildung 6.32) vorgenommen. Mit diesem Wissen lassen sich die Signale im  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) zuordnen. Zusätzlich ist das  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  FSLG Spektrum der 4:1 EDC-HCl (Abbildung 6.37d) aufgenommen worden um die Position des Protonensignals, welches von den OH Gruppen der Cellulose stammt, zu zeigen.

#### Experimentelle Details für die Spektren in Abbildung 6.37

Alle Spektren wurden an einem Bruker Avance II+ 400 MHz Spektrometer bei 9,4 T, was einer Frequenz von 100,62 MHz für  $^{13}\text{C}$  und 400,13 MHz für  $^1\text{H}$  entspricht, aufgenommen. Zur Datenaufnahme wurde ein

---

Bruker 3,2 mm  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\text{X}/\text{Y}$  Tripelresonanz Probenkopf verwendet und die Probe wurde mit 14 kHz rotiert. Das  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS Spektrum (Abbildung 6.37a) wurde mit einer Kreuzpolarisationspulssequenz mit einer linearen Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal während des Kontaktes aufgenommen. Die Kontaktzeit wurde auf 1,5 ms und die Wiederholzeit auf 10 s gesetzt. Die Akquisitionszeit wurde auf 48 ms gesetzt und eine heteronukleare TPPM15 [95] Entkopplung mit  $15^\circ$  Phasensprüngen während der Datenaufnahme durchgeführt. Jedes Spektrum wurde mit 128 Scans aufgenommen und auf TMS (0 ppm) unter Verwendung von Adamantan (38,5 ppm) als externen Standard referenziert.

Das  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum (Abbildung 6.37c) wurde unter Verwendung einer lghetfq Pulssequenz [166], welche in der Bruker TopSpin Software implementiert ist, aufgenommen. Für die Anregung wurde ein  $\pi/2$  Puls mit einer Länge von  $2,87\ \mu\text{s}$  auf dem  $^1\text{H}$  Kanal eingestrahlt. Homonukleare Protonenentkopplung wurde während der Evolutionszeit der chemischen Verschiebung unter Verwendung eines  $B_1$  Feldes mit einer Nutationsfrequenz von 109 kHz durchgeführt. Während der Kontaktzeit von  $100\ \mu\text{s}$  wurde Kreuzpolarisationstransfer mit einer linearen Rampe auf dem  $^1\text{H}$  Kanal induziert. Die Wiederholzeit wurde auf 10 s gesetzt und 128 Ebenen wurden jeweils mit 32 Scans aufgenommen. Die Akquisitionszeit wurde auf 48 ms gesetzt und es wurde eine heteronukleare TPPM15 [95] Entkopplung mit  $15^\circ$  Phasensprüngen während der Datenaufnahme durchgeführt. Die  $^{13}\text{C}$  Dimension des Spektrums wurde auf TMS (0 ppm) unter Verwendung von Adamantan (38,5 ppm) als externen Standard referenziert. Die  $^1\text{H}$  Dimension des Spektrums wurde analog zur f1 Dimension im  $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$  FSLG Spektrum referenziert.[195]

Das  $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$  FSLG Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) (Abbildung 6.37b) wurde mit den selben Parametern wie das  $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$  CP MAS FSLG HETCOR Spektrum, ausgenommen der Kreuzpolarisation und  $^1\text{H}$  Entkopplung, aufgenommen.

Das  $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$  FSLG Spektrum der 4:1 EDC·HCl Probe (Abbildung 6.37d) wurde mit den selben Parametern wie das  $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$  FSLG Spektrum des reinen Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) aufgenommen.

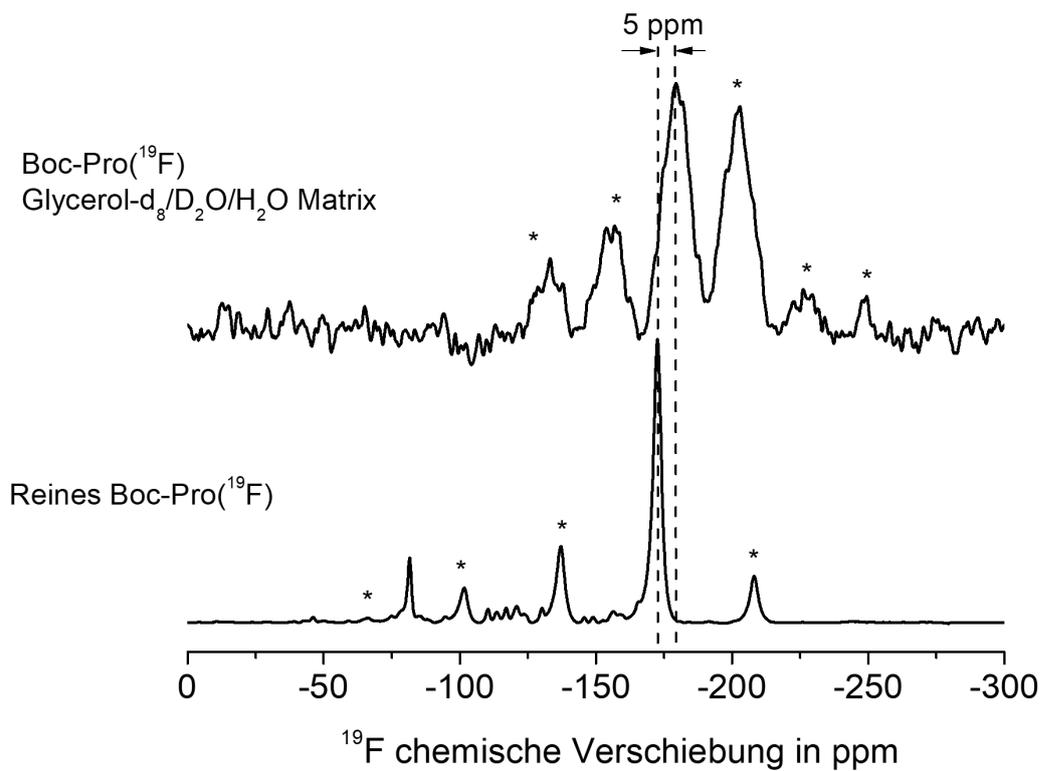


Abbildung 6.38: Quantitatives  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektrum bei einer Rotationsfrequenz von 18 kHz und einem Feld von 14,1 T von reinem Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) im Vergleich mit DNP verstärktem  $^{19}\text{F}$  MAS NMR Spektrum bei einer Rotationsfrequenz von 10 kHz und einem Feld von 9,4 T von Boc-Pro( $^{19}\text{F}$ ) in einer 15 mM AMUPol Glycerol- $\text{d}_8/\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$  (6:3:1 w/w/w) Matrix. Adaptiert von [2] (Publikationsliste)