

# Ramanova optická aktivita – proč a nač

Doc. RNDr. Vladimír Baumruk, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, Matematicko-fyzikální fakulta, Fyzikální ústav UK

[baumruk@karlov.mff.cuni.cz](mailto:baumruk@karlov.mff.cuni.cz)

---

## 1. Úvod

Na přelomu 60. a 70. let minulého století bylo na základě obecné teorie polarizačních vlastností Rayleighova (pružného) a Ramanova (nepružného) rozptylu světla chirálními molekulami ukázáno, že rozptýlené světlo obsahuje velmi slabou složku s kruhovou polarizací, a naopak že intenzita rozptylu dopadajícího pravo- a levotočivě kruhově polarizovaného záření je poněkud rozdílná.<sup>1</sup> Tento objev vedl k rozvoji zcela nové chiroptické metody, která je nyní známa jako Ramanova optická aktivita (ROA) a která se rozvinula ve významnou spektroskopickou techniku aplikovatelnou na širokou škálu chirálních vzorků počínaje jednoduchými molekulami až po viry.<sup>2</sup>

ROA, která je ve své podstatě technikou diferenční spektroskopie, měří rozdíl v odezvě *chirální* molekuly vůči *pravo-* a *levotočivě kruhově polarizovanému záření*. Výsledkem měření ROA jsou vždy dvě spektra – vlastní ROA (tedy diferenční) spektrum a zdrojové Ramanovo (sumární) spektrum. V teorii ROA zavádíme bezrozměrnou veličinu  $\Delta$  pojmenovanou jako *diferenční cirkulární intenzita* (circular intensity difference), která je definována jako podíl ROA ke zdrojovému Ramanovu signálu vztahem

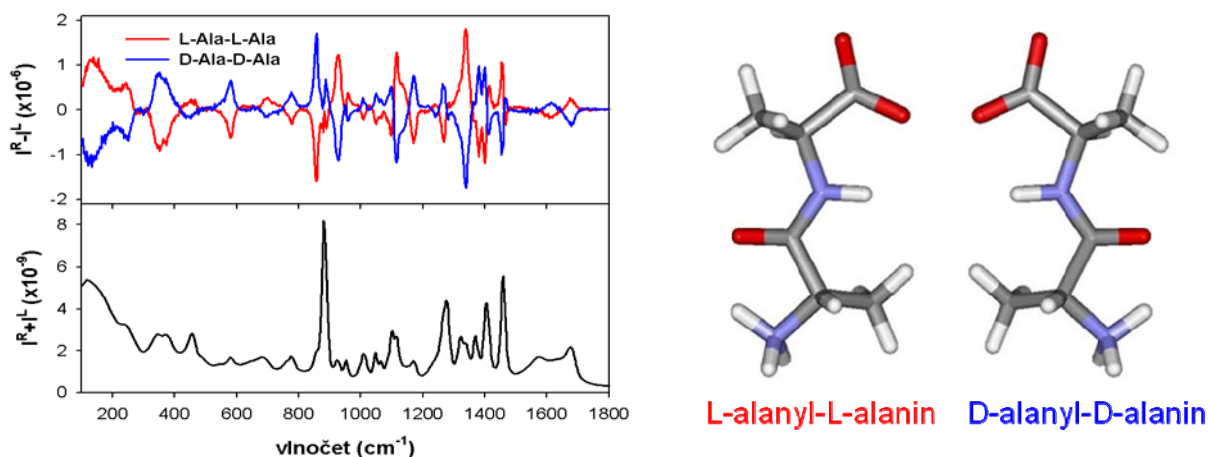
$$\Delta \equiv \frac{I^R - I^L}{I^R + I^L}$$

a kterou lze experimentálně určit na základě měření intenzity rozptylu dopadajícího pravo- ( $I^R$ ) a levotočivě ( $I^L$ ) kruhově polarizovaného záření. Tato veličina je analogem faktoru chiralit  $g$  (dissymmetry factor), který je používán pro popis cirkulárního dichroismu (CD). Povšimněme si, že z historických důvodů ROA používá konvenci  $R$  minus  $L$ , zatímco CD konvenci opačnou ( $L$  minus  $R$ ).

ROA je velmi slabým jevem, neboť  $\Delta$  nabývá v nejlepším případě hodnot  $\sim 10^{-3}$ . Přitom i konvenční Ramanův jev má jako nepružný rozptyl velmi malý účinný průřez (z  $10^6$  rozptýlených fotonů je jen jeden rozptýlen nepružně). Experimentálně byla ROA prokázána v roce 1973,<sup>3</sup> avšak její rozvoj až do počátku 90. let 20. století byl výrazně omezen tehdejšími experimentálními možnostmi (jednokanálová detekce a měření spekter bod po bodu). Od

počátku 90. let však díky pokroku v experimentální technice (především díky využití mnohokanálových CCD detektorů v Ramanově spektroskopii) nastal prudký rozvoj této metody, který byl završen v roce 2002, kdy se na trhu objevil první (a zatím jediný) komerční ROA spektrometr ChiralRAMAN™ od firmy BioTools.

Význam ROA tkví v tom, měří **vibrační** optickou aktivitu a poskytuje tedy ve srovnání se standardní chiroptickou technikou viditelného a ultrafialového cirkulárního dichroismu (ECD), který měří **elektronovou** optickou aktivitu, mnohem bohatší stereochemickou informaci. To je na první pohled zřejmé z ROA spektra L-alanyl-L-alaninu (obr. 1), kde pozorujeme ROA pásy téměř pro všechny pásy vibračního Ramanova spektra, přičemž znaménko a intenzita každého z nich odráží stereochemii včetně absolutní chiralidy té části molekuly, která se příslušné normální vibrace účastní. ROA, podobně jako komplementární technika vibračního cirkulárního dichroismu (VCD), sonduje stereochemii molekulárního skeletu **přímo**, zatímco elektronová optická aktivita sonduje stereochemii pouze **nepřímo** prostřednictvím chromoforu. Opticky aktivní molekuly, které postrádají elektronový chromofor, nelze zkoumat pomocí ECD, lze je ale zkoumat pomocí ROA a VCD.



**Obr. 1:** Zrcadlová symetrie dvou enantiomerů se odráží v zrcadlové symetrii jejich ROA spekter. Ramanovo spektrum (vlevo dole) a odpovídající ICP ROA spektrum (vlevo nahoře) 2M roztoku ve vodě L-alanyl-L-alaninu (černě) a D-alanyl-D-alaninu (šedě) měřená v geometrii zpětného rozptylu.

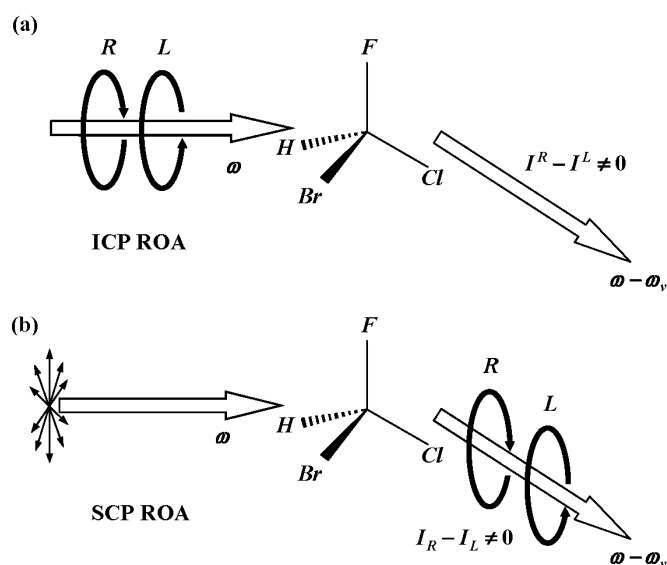
Událost rozptylu probíhá v časové škále  $\sim 10^{-14}$  s, která je mnohem kratší než i ty nejrychlejší konformační změny. ROA spektrum tedy bude superpozicí příspěvků od všech konformací, které jsou přítomny ve vzorku v rovnováze. Intenzita ROA závisí na absolutní chiralitě, a proto může dojít k vyrušení příspěvků enantiomerních struktur, jež mohou vznikat při tom, jak pohyblivé části molekuly procházejí celou škálou dostupných konformací. To je zdrojem zvýšené citlivosti ROA k dynamickému chování (bio)molekulárních struktur.

## 2. Experimentální přístupy

Ramanova optická aktivita je spojena s fundamentálním přechodem mezi vibračními hladinami normálního vibračního módu v základním elektronovém stavu, podobně jako při vibračním cirkulárním dichroismu, což umožňuje přímé srovnání VCD a ROA spekter měřených ve stejném spektrálním oboru. Ramanův rozptyl je ale na rozdíl od absorpce dvoufotonový proces, a proto je ROA ve srovnání s VCD mnohem komplexnější, a to jak teoreticky (složitý nepřilíš názorný formalismus) tak experimentálně (tady komplexnost umožňuje větší variabilitu). Díky tomu lze při měření ROA použít různá experimentální uspořádání, kdy volitelnými parametry jsou geometrie experimentu (úhel rozptylu) a modulační schéma (to jest způsob jak ROA měříme). V současnosti je nejběžnější měření v geometrii zpětného rozptylu ( $180^\circ$ ), neboť se ve shodě s teorií ukazuje, že v této geometrii je poměr ROA ke zdrojovému Ramanovu signálu nejpříznivější. Avšak ranná ROA měření až do konce 80. let byla realizována v pravoúhlé geometrii ( $90^\circ$ ). Pokud jde o modulační schéma historicky první byla ICP (incident circular polarization) varianta, která je založena na **modulaci polarizace dopadajícího záření** (obr. 2a), kdy pomocí elektrooptického modulátoru střídavě přepínáme mezi pravo- a levotočivou kruhovou polarizací, synchronně s tím zaznamenáváme intenzity rozptýleného záření  $I^R$  a  $I^L$  a měříme buď totální rozptyl (v geometrii  $180^\circ$ ) nebo jeho polarizovanou respektive depolarizovanou složku (v  $90^\circ$  geometrii při použití analyzátoru). V této variantě ROA tedy neměříme  $I^R$  a  $I^L$  signál současně ale v různých časech. ICP variantu využívá i ROA spektrometr vybudovaný na Fyzikálním ústavu UK.

Komerční spektrometr ChiralRAMAN™ naopak využívá SCP (scattered circular polarization) variantu (obr. 2b) vycházející z originální koncepce W. Huga.<sup>4</sup> Její hlavní předností je současné zaznamenávání intenzity **pravo- a levotočivě kruhově polarizované složky v rozptýleném záření**. Tím se automaticky zbavíme složky šumu označované jako "flicker noise", která je vyvolaná přítomností prachových částic ve vzorku, fluktuacemi hustoty, kolísáním výkonu laseru a dalšími náhodnými ději. Šum je potom v tomto případě čistě statistické povahy a je možno ho vyhlazovacími procedurami minimalizovat. Experimentálně byly realizovány i DCP (dual circular polarization) varianty, kdy modulujeme kruhovou polarizaci dopadajícího záření a zaznamenáváme intenzitu kruhově polarizované složky v rozptýleném záření - DCP<sub>I</sub> (ve fázi, kdy měříme  $I_R^R - I_L^L$ ) a DCP<sub>II</sub> (v protifázi, kdy měříme  $I_L^R - I_R^L$ ).<sup>5</sup>

Typický ROA spektrometr se tedy skládá z budícího laseru (zpravidla argonový nebo diodami čerpaný pevnolátkový), rychlého (ideálně  $f/1.4$ ) zobrazovacího spektrografu a chlazeného CCD detektoru.<sup>2</sup> ICP ROA spektrometr má navíc v excitační větvi elektrooptický modulátor (Pockelsova cela), pomocí kterého přepínáme mezi pravo- a levotočivou kruhovou polarizací dopadajícího záření. Jádrem SCP ROA spektrometru je naopak polarizační dělič, který dokáže oddělit pravo- a levotočivě kruhově polarizované komponenty v rozptýleném záření, pomocí vláknové optiky je přivést na vstup spektrografu a obě je zobrazit na CCD detektoru (nad sebou). ROA spektrum potom získáme jejich odečtením.



**Obr. 2:** Dva ekvivalentní ROA experimenty. (a) v ICP ROA měříme  $I^R - I^L$ , kde  $I^R$  a  $I^L$  jsou intenzity rozptýleného záření (nepolarizované) pro **dopadající** pravo- respektive levotočivě kruhově polarizované záření. (b) v SCP ROA měříme  $I_R - I_L$ , kde  $I_R$  a  $I_L$  jsou intenzity pravo- a levotočivě **kruhově polarizované komponenty v rozptýleném záření**, zatímco dopadající záření je buď lineárně polarizované nebo případně nepolarizované (jak je ukázáno zde). Podle užívané konvence horní indexy označují polarizaci dopadajícího záření a dolní indexy polarizaci rozptýleného záření.

Ve srovnání s VCD přináší ROA dvě podstatné výhody. Tou první je spektrální rozsah měření. VCD je zpravidla měřeno v oblasti nad  $900\text{ cm}^{-1}$ , výjimečně lze měřit již od  $600\text{ cm}^{-1}$ , oblast vlnočtů nižších než  $600\text{ cm}^{-1}$  však doposud zůstává pro VCD nepřístupná. ROA lze dnes standardně měřit již od  $200\text{ cm}^{-1}$  a v příznivém případě dokonce od  $100\text{ cm}^{-1}$ . Druhou výhodou ROA oproti VCD je možnost měření ve vodném roztoku. Voda jako polární molekula silně absorbuje infračervené záření a to komplikuje či dokonce znemožňuje měření VCD v oblastech silné absorpce rozpouštědla. Voda naopak má pouze slabý Ramanův rozptyl a představuje tak pro tuto spektroskopickou metodu téměř ideální rozpouštědlo.

### 3. Nástin teorie

Výrazy pro veličinu  $\Delta$  můžeme odvodit pro různé experimentální varianty ROA na základě semiklasické teorie tak, že si vyjádříme vektory intenzity elektrického a magnetického pole oscilujícího elektrického dipólu, magnetického dipólu a elektrického kvadrupólu, které jsou indukovány dopadající světelnou vlnou (v případě ICP ROA kruhově polarizovanou), a přímo vyjádříme  $I^R - I^L$  (ROA) a  $I^R + I^L$  (Raman). Pro popis Ramanova rozptylu je postačující tzv. dipólová aproximace omezující se pouze na indukovaný elektrický dipól, při popisu ROA však musíme vyjít za její rámec a zahrnout do výpočtu i indukovaný magnetický dipól a elektrický kvadrupól. Příspěvky od jednotlivých členů můžeme vyjádřit pomocí tenzoru molekulární polarizovatelnosti  $\alpha_{\alpha\beta}$  (elektrické dipól-dipólové), a dvou tenzorů optické aktivity  $G'_{\alpha\beta}$  (elektrické dipól-magnetické dipólové polarizovatelnosti) a  $A_{\alpha\beta\gamma}$  (elektrické dipól-elektrické kvadrupólové polarizovatelnosti). Pro izotropní soubor chirálních molekul (přechod k němu představuje středování přes všechny orientace rozptylujících molekul a přechod od složek tenzorů k jejich invariantům) potom například pro ICP ROA v geometrii zpětného rozptylu dostaneme pro  $\Delta$  výraz

$$\Delta(180^\circ) \equiv \frac{I^R - I^L}{I^R + I^L} = \frac{48 \left[ \beta(G')^2 + (1/3)\beta(A)^2 \right]}{2c \left[ 45\alpha^2 + 7\beta(\alpha)^2 \right]},$$

kde  $\alpha$  je izotropní invariant tenzoru polarizovatelnosti,  $\alpha = (1/3)\alpha_{\alpha\alpha} = (1/3)(\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz})$  a  $\beta(\alpha)^2$ ,  $\beta(G')^2$  a  $\beta(A)^2$  jsou anizotropní invarianty tenzoru polarizovatelnosti a tenzorů optické aktivity,  $\beta(\alpha)^2 = (1/2)(3\alpha_{\alpha\beta}\alpha_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha}\alpha_{\beta\beta})$ ;  $\beta(G')^2 = (1/2)(3\alpha_{\alpha\beta}G'_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha}G'_{\beta\beta})$  a  $\beta(A)^2 = (1/2)\omega\alpha_{\alpha\beta}\varepsilon_{\alpha\gamma\delta}A_{\gamma\delta\beta}$ .

Striktně vzato platí výše uvedené vztahy pro Rayleighův (pružný) rozptyl. V případě Ramanova rozptylu musíme ve výrazu pro  $\Delta$  tenzory molekulárních vlastností nahradit Ramanovými tenzory přechodu mezi počátečním a konečným vibračním stavem  $n_v$  a  $m_v$ . Tedy například  $\alpha_{\alpha\beta}$  je nahrazeno  $\langle m_v | \alpha_{\alpha\beta}(Q) | n_v \rangle$  atd., kde  $\alpha_{\alpha\beta}(Q)$  atd. jsou operátory polarizovatelnosti a optické aktivity, které parametricky závisí na normální vibrační souřadnici  $Q$ . V rámci Placzekovy teorie polarizovatelnosti potom bude ROA intenzita záviset na součinech typu  $(\partial\alpha_{\alpha\beta}/\partial Q)_0$ ,  $(\partial G'_{\alpha\beta}/\partial Q)_0$  a  $(\partial\alpha_{\alpha\beta}/\partial Q)_0 \varepsilon_{\alpha\gamma\delta} (\partial A_{\gamma\delta\beta}/\partial Q)_0$ .<sup>6</sup>

#### 4. Interpretace ROA spekter

ROA spektra mohou být interpretována na několika úrovních – od čistě empirické korelace užívané v počátcích rozvoje, přes sofistikovanější přístupy založené na statistických metodách, jako je například faktorová analýza, až po modelové *ab initio* kvantově-chemické výpočty spekter. Výpočet zahrnuje několik kroků – optimalizaci geometrie (výpočet rovnovážné konfigurace jader), výpočet silového pole a frekvencí vibrací (zpravidla v harmonické aproximaci) a konečně výpočet intenzit pásů v Ramanově i v ROA spektru. V poslední době je zřejmá snaha zahrnout do výpočtu i vliv rozpouštědla, především pro podvojně ionty, pro které výpočty ve vakuu nevedou k realistické rovnovážné konfiguraci. Základním kritériem úspěšnosti výpočtu ROA spekter je dosažení shody znaménka pásů, popřípadě i relativní intenzity, s experimentálními daty. Lepší shody s experimentem obecně dosahují výpočty zahrnující elektronovou korelaci, ať už teorie elektronové hustoty (DFT) či poruchová teorie MP2, jež vedou k realističtějšímu silovému poli a tudíž i k přesnějšímu popisu vibračních pohybů jader. *Ab initio* metody výpočtu ROA spekter jsou podrobněji probírány jiné kapitole těchto skript.

#### 5. Vybrané příklady využití ROA

Základními aplikacemi ROA spektroskopie jsou: **(1)** určování absolutní konfigurace opticky aktivních molekul v roztoku, **(2)** měření enantiomerní čistoty a **(3)** studium struktury (bio)molekul v roztoku.

**Ad (1):** Máme-li vzorek čistého enantiomeru, potom základním problémem stereochemie je určit pomocí fyzikálních metod, který ze dvou enantiomerů to je. ROA spektra v kombinaci s jejich kvantově-chemickou simulací lze užít pro určení absolutní konfigurace malých až středně velkých chirálních molekul. Postup je následující: na základě *ab initio* výpočtu je pro zvolenou absolutní konfiguraci simulováno ROA spektrum. Pokud simulované a změřené spektrum sobě odpovídají jak ve znaménkách ROA pásů, tak v jejich polohách a relativních intenzitách, je konfigurace molekuly zvolená pro výpočet totožná s konfigurací měřené molekuly.

Přesvědčivým testem schopnosti ROA je určení absolutní konfigurace chirálně deuterovaného neopentanu  $C(CH_3)_4$ .<sup>7</sup> Tato molekula neobsahuje žádný těžký atom, proto anomální rozptyl X-paprsků není v tomto případě použitelný. Chiralita je zde indukována pouhou izotopickou záměnou vodíku za deuterium ve třech ze čtyř  $CH_3$  skupin, tak aby molekula obsahovala po jedné skupině  $CH_3$ ,  $CH_2D$ ,  $CHD_2$  a  $CD_3$ . ROA je navíc velmi slabá ( $\Delta \sim 10^{-5}$ ). Situaci komplikuje i existence celkem devíti různých rotačních konformerů ve

vzorku, neboť každá z CH<sub>2</sub>D a CHD<sub>2</sub> skupin může mít tři různé orientace. Proto bylo pro každý rotamer spočítáno ROA spektrum a výsledné ROA spektrum bylo získáno jako jejich průměr (díky vyrušení signálu je  $\Delta$  ve výsledném spektru řádově menší ve srovnání se spektry jednotlivých rotamerů!). Impozantní shoda s experimentem, primárně ve znaménku ale i v intenzitě pásů, umožnila jednoznačně stanovit absolutní konfiguraci jako *R*.

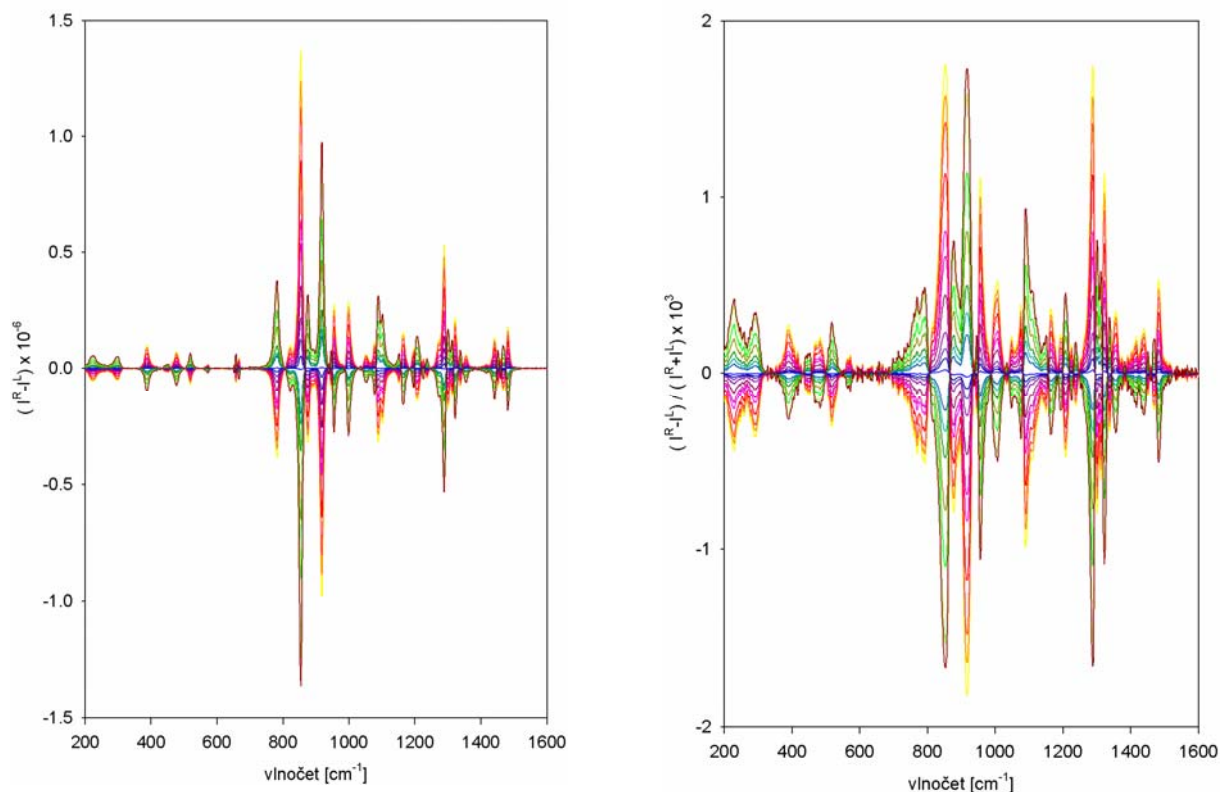
**Ad (2):** Sledování enantiomerní čistoty je jednou z možných analytických aplikací Ramanovy optické aktivity (ROA), která může být potenciálně zajímavá pro farmaceutický průmysl. Optická aktivita vzorku se projevuje pouze tehdy, je-li v měřeném vzorku buď čistá enantiomerní forma nebo přebytek jedné z enantiomerních forem. V případě, kdy jsou ve vzorku přítomny pouze dva optické antipody o různých koncentracích, je užitečné definovat enantiomerní přebytek (enantiomeric excess)  $f_{EE}$  jako přebytečné množství jednoho enantiomeru (*R*) nad druhým (*S*) vztažený k celkovému množství obou enantiometů ve vzorku

$$f_{EE} = \frac{c_R - c_S}{c_R + c_S} \quad [\%].$$

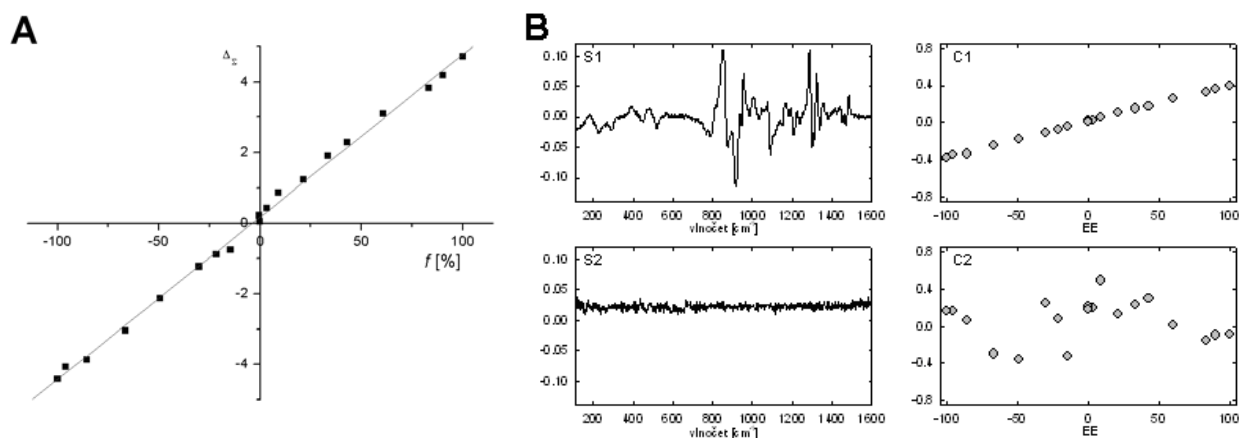
Veličina  $f_{EE}$  nabývá hodnoty 100% pro čistý enantiomer *R*, -100% pro čistý enantiomer *S* a 0% pro racemickou směs. Je zřejmé, že intenzita pásů ROA spektra je přímo úměrná enantiomernímu přebytku. Pro kvantitativní stanovení je však nezbytné provést kalibrační měření na souboru vzorků o různé ale známé enantiomerní čistotě (jako příklad mohou sloužit data uvedená na obr. 3). Namísto ROA spekter je při určování enantiomerního přebytku vhodnější pracovat s podílovými spektry ROA/Raman, neboť ta jsou normována na zdrojový Ramanův signál. Toto podílové spektrum je vlastně spektrem diferenční cirkulární intenzity  $\Delta$  definované v úvodu.

Informaci o enantiomerním přebytku lze z kalibračních měření vyhodnotit několika způsoby. Ten nejjednodušší pracuje s intenzitou jednoho či několika vybraných pásů, ten pokročilejší využívá statistických metod zpracování dat, např. faktorovou analýzu. Předností druhého přístupu je, že pro vyhodnocení využívá celé spektrum a nikoli jen několik vybraných pásů. V případě roztoků nebo směsí obsahujících více různých chirálních molekul je použití statistických metod nutností, protože umožňuje separovat signál od jednotlivých komponent i signál rozpouštědla. Příklad kalibrační křivky získané pomocí intenzity tří nejvýraznějších pásů (854, 917 a 1322 cm<sup>-1</sup>) v podílových spektrech ROA/Raman (obr. 3B) je uveden na obr. 4A. Na obr. 4B je uveden výsledek faktorové analýzy stejného souboru dat. Faktorová dimenze 1, která udává počet významných komponent, není překvapením, neboť

ROA spektra dvou enantiomerů jsou až na znaménko shodná (jedno převedeme v druhé prostým vynásobením faktorem -1).



**Obr. 3:** Soubor ROA spekter 19 vzorků *trans*-pinanu o různé enantiomerní čistotě (vlevo). Soubor odpovídajících podílových (ROA/Raman) spekter diferenční cirkulární intenzity  $\Delta$  (vpravo).

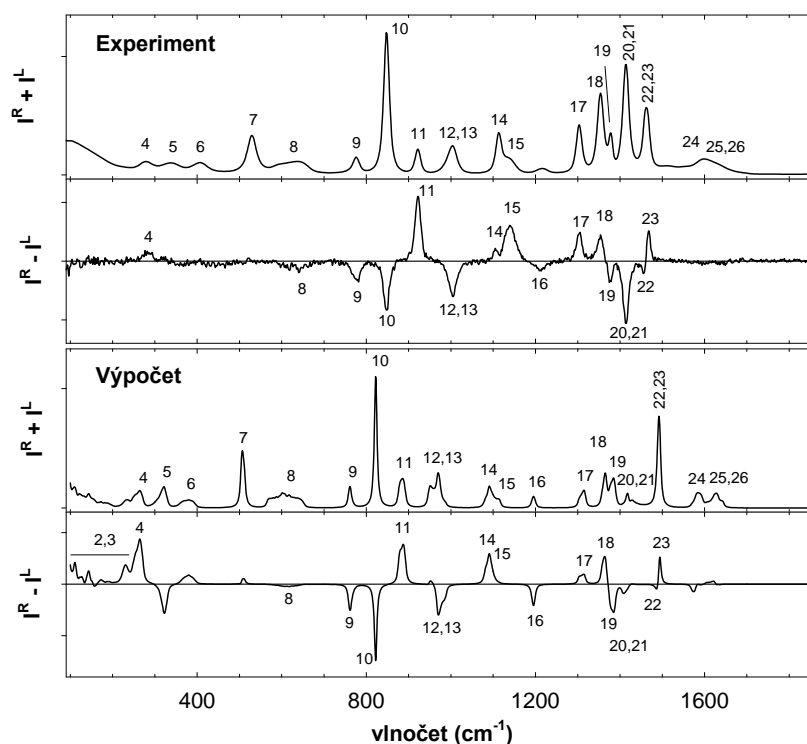


**Obr. 4:** **A:** Kalibrační křivka pro stanovení enantiomerní čistoty na základě intenzity tří nejvýraznějších pásů (854, 917 a 1322  $\text{cm}^{-1}$ ) v podílových spektrech z obr. 3B. **B:** Výsledek faktorové analýzy souboru 19 podílových spekter ROA/Raman z obr. 3B. Významné je pouze první subspektrum (označené S1), tedy faktorová dimenze je 1. Lineární závislost koeficientu C1 na enantiomerním přebytku je analogem kalibrační křivky.



V jednosložkovém vzorku (směs dvou enantiomerů jedné chirální molekuly) lze pomocí ROA za příznivých podmínek stanovit již 0,1% přebytek, ve dvousložkové směsi různých chirálních molekul lze odhalit 1-2% enantiomerní přebytek jedné ze složek.<sup>8</sup>

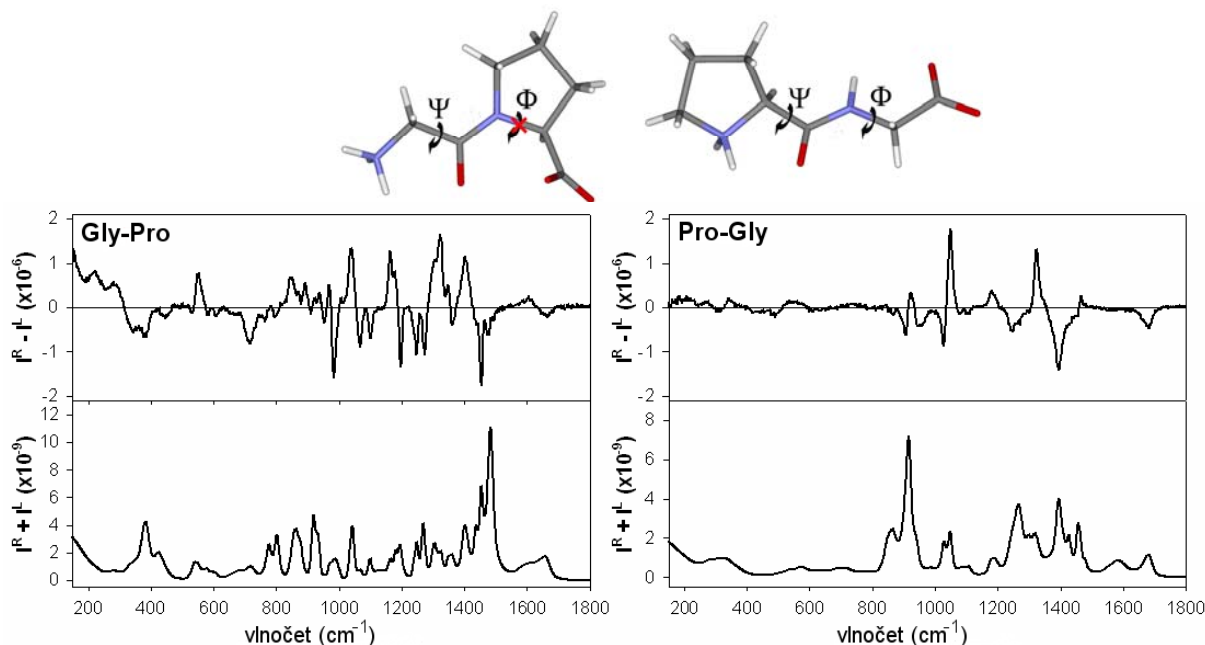
**Ad (3):** *Ab initio* výpočty ROA spekter začínají mít dopad i na studium konformace malých biomolekul ve vodném roztoku. Mapování konformačního prostoru zwitterionického L-alaninu ukázalo, že tvar Ramanových a ROA pásů je do značné míry ovlivněn rotací  $\text{NH}_3^+$  a  $\text{COO}^-$  skupin.<sup>9</sup> Molekulu v roztoku nelze popisovat jako rigidní systém, naopak pro dosažení lepší shody s experimentem je nezbytné do výpočtu zahrnout i dynamiku její struktury (obr. 5). Na takto „jednoduchých“ systémech lze také testovat implicitní i explicitní modely rozpouštědla.<sup>10</sup>



**Obr. 5:** Srovnání experimentálních Ramanových a ICP ROA spekter 1,6M roztoku zwitterionického L-alaninu ve vodě se simulovanými spektry (*ab initio* DFT, implicitní model rozpouštědla, Boltzmannovo konformační středování).

Na příkladu dvou jednoduchých dipeptidů Gly-Pro a Pro-Gly ve vodném roztoku lze demonstrovat, jak výrazným způsobem se konformační flexibilita molekul projevuje v ROA a Ramanových spektrech (obr. 6).<sup>9</sup> Rigidita Gly-Pro je dána tím, že prolin je na C konci dipeptidu a že rotace kolem vazby  $\text{C}_\alpha\text{-N}$  (torzní úhel  $\Phi$ ) je pětičlenným kruhem výrazně omezena. Pro-Gly je ve srovnání s Gly-Pro mnohem flexibilnější, neboť prolin se nachází na N konci dipeptidu a rotace kolem torzního úhlu  $\Phi$  je v tomto případě volná. Z obr. 6 je zřejmé, že u flexibilního systému je ROA spektrum díky vyrušení signálu od různých

konformerů velmi jednoduché, pásy v ROA i v Ramanově spektru jsou rozšířené, v oblasti torzních vibrací ( $200\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ ) jsou Ramanovy pásy široké a ROA signál je zde velmi slabý. Naopak u rigidního systému je spektrum zřetelně bohatší, s úzkými dobře rozlišenými pásy a relativně intenzivním ROA signálem i v oblasti torzních vibrací.



**Obr. 6:** Srovnání spekter rigidní (Gly-Pro) a flexibilní (Pro-Gly) molekuly s naznačenými hlavními stupni volnosti. **Vlevo:** Ramanovo a ICP ROA spektrum 2M roztoku Gly-Pro ve vodě. **Vpravo:** Ramanovo a ICP ROA spektrum 0,89M roztoku Pro-Gly ve vodě.

## 6. Závěr

Ramanova optická aktivita představuje unikátní a dynamicky se rozvíjející metodu studia struktury chirálních molekul v roztoku s velkým aplikačním potenciálem nejen v základním výzkumu. Sledování enantiomerní čistoty představuje jednu z možných analytických aplikací ROA, která může být zajímavá pro farmaceutický průmysl. V České republice je dostupný nekomerční ROA spektrometr, vybudovaný na Fyzikálním ústavu Univerzity Karlovy v Praze.

## Literatura

1. Atkins P.W., Barron L.D., *Mol. Phys.* **16**, 453 (1969).
2. Barron L.D., Hecht L., McColl I.H., Blanch E.W., *Mol. Phys.* **102**, 731 (2004).
3. Barron L.D.; Boggard M.P., Buckingham A.D., *Nature* **241**, 113 (1973).
4. Hug W., Hangartner G., *J. Raman Spectrosc.* **30**, 841-852 (1999).
5. Nafie L.A., *Appl. Spectrosc.* **50**, 14A (1996).
6. Barron L.D., *Molecular Light Scattering and Optical Activity, Second Edition*. Cambridge University Press, Cambridge 2004.
7. Haesler J., Schindelholz I., Riguet E., Bochet C.G., Hug W., *Nature* **446**, 526 (2007).
8. Hecht L., Phillips A.L., Barron L.D., *J. Raman Spectrosc.* **26**, 727 (1995).
9. Kapitán J., Baumruk V., Kopecký V. Jr., Bouř P., *J. Phys. Chem.* **110**, 4689 (2007).
10. Kapitán J., Baumruk V., Kopecký V. Jr., Pohl R., Bouř P., *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 13451 (2006).