PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

Katedra optiky

Použití Ramanovy optické aktivity ke studiu interakce rozpuštěné látky s rozpouštědlem

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Pavel Michal

2017

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

Katedra optiky

Použití Ramanovy optické aktivity ke studiu interakce rozpuštěné látky s rozpouštědlem

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vypracoval:	Bc. Pavel Michal
Studijní program:	N1701 Fyzika
Studijní obor:	Optika a optoelektronika
Forma studia:	prezenční
Vedoucí diplomové práce:	RNDr. Josef Kapitán, Ph.D.
Konzultant diplomové práce:	Prof. RNDr. Petr Bouř, DSc.

FACULTY OF SCIENCE
PALACKÝ UNVERSITY OLOMOUC

Department of Optics

Utilization of Raman optical activity for investigation of solvent-solute interaction

DIPLOMA THESIS

Author:	Bc. Pavel Michal
Study program:	N1701 Physics
Field of study:	Optics and Optoelectronics
Form of study:	Full-time
Supervisor:	RNDr. Josef Kapitán, Ph.D.
Co-supervisor:	Prof. RNDr. Petr Bouř, DSc.

Abstrakt

Ramanova optická aktivita patří mezi analytické techniky vysoce citlivé k prostorovému uspořádání chirálních molekul. Cílem této diplomové práce je měření a následná analýza interakce vybrané organické molekuly (kafru) s rozpouštědly pomocí této techniky. Naměřená Ramanova a ROA spektra jsou interpretována pomocí kvantově-chemických *ab initio* simulačních technik a molekulové dynamiky.

Klíčová slova

Ramanova optická aktivita, chiroptická spektroskopie, Ramanův rozptyl, kafr, interakce rozpuštěné látky s rozpouštědlem, vodíková vazba.

Abstract

Raman optical activity has proved to be very sensitive probe of molecular structure and conformational dynamics of chiral molecules in solution. The main goal of this Diploma thesis is to measure and analyze interaction of chosen organic molecule (camphor) with solvents throught this technique. Measured Raman and ROA spectra are interpreted with the help of *ab initio* simulations and molecular dynamics.

Key words

Raman optical activity, chiroptical spectroscopy, Raman scattering, camphor, solvent-solute interaction, hydrogen bond.

Poděkování

Úvodem bych velmi rád poděkoval svému vedoucímu, panu RNDr. Josefu Kapitánovi, Ph.D. za seznámení se světem Ramanovy optické aktivity, zejména pak za jeho odborné vedení, trpělivost a přátelský postoj, se kterým ke mně přistupoval po celou dobu mého studia. Jeho práce se mi stala inspirací.

Dále mé poděkování patří Prof. RNDr. Petru Bouřovi, CSc. z Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v Praze za veškeré poskytnuté rady a zaškolení v oblasti kvantově-chemických simulací. Rovněž mu děkuji za poskytnutí přístupu k výpočetní síle virtuálního serveru Ústavu organické chemie a biochemie k vyhodnocení potřebných simulací. Většina simulačních programů použitých v této práci jsou také jeho dílem. Také děkuji Mgr. Jiřímu Kesslerovi za vždy pohotovou pomoc s výpočty v programu Gaussian.

Panu Prof. RNDr. Juraji Ševčíkovi, Ph.D. z Katedry analytické chemie PřF UP v Olomouci děkuji za možnost využití digitálních vah k navážení množství měřených vzorků.

V neposlední řadě bych chtěl hluboce poděkovat své rodině a přítelkyni za veškerou podporu, lásku a pochopení, bez nichž by realizace této práce nebyla možná.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci „Použití Ramanovy optické aktivity ke studiu interakce rozpuštěné látky s rozpouštědlem“ napsal samostatně za použití literatury uvedené v referencích. Rovněž souhlasím s dalším využitím této práce na případné studijní a výzkumné účely Katedry optiky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého.

V Olomouci dne .....

.....

Pavel Michal

Obsah

Úvod **1**

1 Teorie **3**
1.1 Vlastnosti elektromagnetického záření 3
1.2 Chirální látky 3
1.3 Born - Oppenheimerova aproximace 4
1.4 Definice normálních vibračních módů v harmonické aproximaci 5
1.5 Teorie Ramanovy optické aktivity 7
1.6 Simulace spekter pomocí kvantově - chemických výpočetních metod 9
1.7 Modely rozpouštědla 11
1.8 Faktor vnitřního zesílení 12

2 Experimentální část **14**
2.1 Experimentální uspořádání 14
2.2 Realizace experimentu 16

3 Metodika simulací spekter **19**
3.1 Molekula kafru v implicitních modelech 19
3.2 MD simulace kafru s molekulami rozpouštědla 19
3.3 Vliv konformační flexibility CH_3 skupin kafru na Ramanovo a ROA spektrum . . 21

4 Výsledky a diskuze **23**
4.1 Porovnání simulovaných a měřených Ramanových a ROA spekter kafru pro různá rozpouštědla 23
4.2 Vyhodnocení faktoru vnitřního zesílení v Ramanových a ROA spektrech kafru . . 36
4.3 Zkoumání velikosti báze při použití implicitního modelu rozpouštědla 39
4.4 Závislosti implicitního modelu na nejdůležitějším parametru – relativní permitivitě 42
4.5 Vliv počtu průměrovaných klastrů MD na přesnost explicitního modelu 43
4.6 Empirická disperzní korekce MD modelu kafru v nepolárním rozpouštědle 44
4.7 Analýza C=O valenční vibrace kafru v methanolu 47
4.8 Studium dynamiky CH_3 skupin v molekule kafru v implicitním modelu 51

Závěr **57**

Reference **58**

Seznam použitých zkratek

B3PW91	tříparametrový Beckeho hybridní funkcionál
CID	rozdíl intenzit kruhově polarizovaného Ramanova záření
CIS	součet intenzit kruhově polarizovaného Ramanova záření
CPCM	implicitní model rozpouštědla s vlastnosti podobající se dokonalému vodiči
DFT	teorie elektronové hustoty
FF	silové pole (Hessián)
MD	molekulární dynamika
PCM	implicitní model rozpouštědla s vlastnosti dielektrika
ROA	Ramanova optická aktivita
SNR	poměr signálu a šumu
VCD	vibrační cirkulární dichroismus
VOA	vibrační optická aktivita

Seznam obrázků

1 Obecné schéma ROA spektrometru. 15
2 Schéma spektrometru pro měření Ramanovy optické aktivity. 15
3 2D a 3D model R-enantiomeru kafru. 17
4 Grafy korekce relativní intenzity. 18
5 Klastr R-enantiomeru kafru s kompletní 1. solvatační sférou metanolu. 21
6 Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v CH_3OH. 26
7 Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v CH_3OH. 27
8 Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v H_2O. 28
9 Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v H_2O. 29
10 Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v C_6H_{12}. 30
11 Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v C_6H_{12}. 31
12 Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v CCl_4. 32
13 Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v CCl_4. 33
14 Graf závislosti normalizované diferenční cirkulární intenzity CPCM modelu kafru v CH_3OH na velikosti báze. 34
15 Překryv experimentálních Ramanových a ROA spekter kafru v rozpouštědlech různé polarity pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení. 37
16 Překryv Ramanových a ROA spekter kafru v rozpouštědlech různé polarity simulovaných metodou (MD,CPCM) pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení. . . . 38
17 Překryv Ramanových a ROA spekter kafru simulovaných v implicitních CPCM modelech rozpouštědel různé polarity pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení. . . 38
18 Vliv velikostí báze na přesnost Ramanových a ROA spekter kafru v CPCM modelu CH_3OH. 40
19 Porovnání vlivů bázových funkcí na výpočet intenzit Ramanových a ROA spekter kafru v CH_3OH. 41
20 Vliv relativní permitivity na CPCM model v programu Gaussian 09 verze D01 a A02. 43
21 Ramanovo a ROA spektrum kafru v CH_3OH průměrované z 5, 10, 15 a 30 klastrů MD. 44
22 Vliv Grimmeho empirické dispérzní korekce na Ramanovo spektrum kafru v CCl_4. 45
23 Vliv Grimmeho empirické dispérzní korekce na ROA spektrum kafru v CCl_4. . . 46
24 Frekvenční závislost Ramanova pásu C=O valenční vibrace a délky C=O vazby kafru pro MD klastry explicitního modelu CH_3OH v CPCM a ve vakuu. 47

25 Kategorizace MD klastrů v CPCM dle druhu mezimolekulární interakce kafru s metanolem působící na Ramanovo a ROA spektrum v oblasti C=O valenční vibrace. 48
26 Interakce C=O vazby kafru s jednou molekulou metanolu. 49
27 Vliv počtu průměrovaných klastrů MD v CPCM kavitě na spektrální oblast C=O valenční vibrace kafru v methanolu. 50
28 Intenzitní poměr ROA pásů 1801 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ v závislosti na relativním zastoupení klastrů MD s/bez vodíkové vazby. 51
29 Molekula kafru s vyznačenými rotacemi methylových skupin. 52
30 1D energetická analýza torzních úhlů CH_3 skupin molekuly kafru v CPCM modelu metanolu. 52
31 Vliv rotace vybrané CH_3 molekuly kafru skupiny na zbylé dvě. 53
32 3D energetická analýza torzních úhlů CH_3 skupin molekuly kafru v CPCM modelu metanolu. 54
33 Percentuální rozdělení Boltzmannovsky vážených konformerů vzhledem k potenciální energii $(\mathrm{kcal/mol})$ molekuly kafru v CPCM modelu methanolu. . . 55
34 ROA spektrum Boltzmannovsky průměrovaných konformací z 1D a 3D energetické analýzy molekuly kafru v CPCM modelu CH_3OH. 56

Seznam tabulek

1 Koeficienty Ramanových a ROA invariantů. 9
2 Parametry použitých rozpouštědel. 17
3 Parametry měřených vzorků a podmínky měření. 18
4 Parametry použité při tvorbě explicitních modelů metodou MD. 20
5 Normalizovaná diferenční cirkulární intenzita na frekvencích 476 a $710\,\mathrm{cm}^{-1}$ pro všechna měření a simulovaná spektra. 35
6 Vliv počtu bázových funkcí na vyhodnocení normalizované diferenční cirkulární intenzity CPCM modelu kafru v CH_3OH. 36
7 Relativní faktor vnitřního zesílení a škálovací koeficienty rozpouštědel vzhledem k methanolu. 37
8 Odhad výpočetních časů pro různé báze s funkcionálem B3PW91 a $4\,\mathrm{GHz}$ CPU. 39
9 Intenzitní poměr Ramanových pásů 650 a $1520\,\mathrm{cm}^{-1}$ pro CPCM modely CH_3OH a CCl_4 a pro experiment. 42

Úvod

Ramanova optická aktivita (ROA) je spektroskopickou technikou, jež měří rozdíl mezi pravo- a levotočivou kruhovou polarizací Ramanova záření generovaného chirální látkou po ozáření monochromatickým zdrojem světla. Výsledkem měření jsou vždy dvě spektra, sumární Ramanovo spektrum a diferenční spektrum ROA. ROA je velmi náročná na detekci, jelikož nabývá o 10^{-3} – $10^{-6}\times$ menší intenzity než slabý Ramanův rozptyl (jeden z milionu fotonů je rozptýlen nepružně). Ramanova optická aktivita je komplementární metodou k vibračnímu cirkulárnímu dichroismu (VCD). Společně tyto metody vibrační optické aktivity (VOA) nabízí vysokou citlivost na prostorové uspořádání atomů chirálních látek a k jejich dynamice, a tudíž poskytují bohatou spektrální strukturu vibračních přechodů v širokém rozsahu vlnočtů.

ROA již byla aplikována při studiu celé řady složitých biomolekul jako jsou peptidy, proteiny, nukleové kyseliny a viry. Analýza jednoduchých molekul jako jsou chirální organické molekuly, cukry a aminokyseliny je poměrně přímočará a umožňuje dobře interpretovat spektra na základě *ab initio* kvantově-chemických výpočtů.

V dnešní době je známo, že *ab initio* simulace ve vakuu jsou nerealistické, a proto se zahrnutí modelů rozpouštědla do simulací stalo běžnou praxí. Odezva rozpuštěné látky na rozpouštědlo se projevuje změnou intenzity pásu v Ramanových a ROA spektrech, z důvodu zesílení pole excitačního záření dielektrikem. Dalším možným projevem je změna prostorového uspořádání molekul vlivem vzájemného působení, nebo specifická interakce vedoucí ke vzniku vodíkových vazeb. Velmi používanými modely rozpouštědla, představující výrazné zlepšení simulovaných spekter, jsou implicitní (dielektrické) modely, jenž vytvářejí kolem zkoumané molekuly polarizačně indukovanou dutinu s vlastnostmi rozpouštědla. Takový model není v mnoha případech dostačující a nejlepších výsledků se momentálně dosahuje explicitním zahrnutím molekul rozpouštědla do výpočtů. Explicitní modelování je časově i výpočetně náročný proces. Navíc přináší další komplikace spojené s konformačním a pozičním průměrováním rozdílně solvatovaných klastrů. Existuje tedy snaha vytvářet modely rozpouštědla optimálnější co do výpočetní náročnosti, tak přesnosti popisu interakcí mezi rozpouštěnou látkou a rozpouštědlem.

Hlavním cílem předkládané diplomové práce je analýza interakce vybrané organické molekuly s rozpouštědly různé polarity pomocí ROA spektrometru vybudovaném na Katedře optiky PřF UP v Olomouci. Za předmět zkoumání byla zvolena chirální molekula kafru, která je dobře rozpustná v řadě rozpouštědel, obsahuje typické funkční skupiny zprostředkovávající interakce v biomolekulách a je dostatečně malá, což umožňuje provést relativně přesné simulace a rovněž měřit koncentrované roztoky.

Předkládaná diplomová práce je rozdělena do čtyř kapitol. V první kapitole jsou shrnuty základy teorie Ramanovy optické aktivity, na které je navázáno stručným popisem *ab initio* výpo-

četních metod spolu s modely rozpouštědla užitými při následné interpretaci naměřených spekter. Druhá kapitola je věnována popisu experimentální soustavy, podmínek a postupů měření. Ve třetí kapitole je uvedená metodika výpočtů odpovídajících Ramanových a ROA spekter. Ve čtvrté kapitole se pak nachází výsledky studia interakce rozpuštěné látky s rozpouštědlem. Je provedeno detailní porovnání teoretických modelů s výsledky měření obou enantiomerů kafru konkrétně v metanolu, vodě, cyklohexanu a tetrachlormetanu. Pozornost je následně věnována vybraným výpočetním aspektům. Závěr čtvrté kapitoly je vyčleněn analýze vodíkových vazeb kafru v metanolu a konformační volnosti metylových skupin této molekuly.

1 Teorie

Analýza interakce elektromagnetického záření s látkou tvořenou chirálními molekulami spadá do oblasti výzkumu zvané chiroptická spektroskopie. K pochopení uvedené problematiky je nejprve nezbytné uvést důležité vlastnosti elektromagnetického záření a popsat chiralitu látek. Následně je teoretická část této práce věnována základům teorie Ramanovy optické aktivity, kvantověchemickým *ab initio* výpočetním metodám a modelům rozpouštědel ovliňujících simulovaná spektra.

1.1 Vlastnosti elektromagnetického záření

Pro zjednodušení popisu vlastností elektromagnetického záření se často uvádí rovinná monochromatická vlna. Tato vlna je definována svoji amplitudou elektrické a magnetické složky pole, frekvencí oscilací vlny ν $[\mathrm{Hz}]$ a fázovými členy jednotlivých složek. Jestliže je prostorová vzdálenost jedné periody vlny popsána vlnovou délkou λ $[\mathrm{nm}]$, pak její převrácená hodnota se nazývá vlnočet $\tilde{\nu}$ $[\mathrm{cm}^{-1}]$ a jsou vzájemně provázány jako

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = n\frac{\nu}{c}, \tag{1}$$

kde c $[\mathrm{m/s}]$ je rychlost světla ve vakuu a n index lomu prostředí.

Další důležitou vlastností elektromagnetické vlny je její polarizace, jenž charakterizuje časovou závislost orientace vektoru elektrické intenzity $\vec{E}$ v prostoru. Popis polarizovaného světla ve Stokesově formalismu a transformace polarizačních stavů prostřednictvím obecných polarizačních komponent v Muellerově maticové reprezentaci je podrobně uveden v referencích [1, 2].

Na světlo lze rovněž nahlížet jako na tok energie, jejíž jednotkou je v tomto případě energie jednoho fotonu. Vztah mezi energií jednoho fotonu a vlnočtem je

$$E_f = hc\tilde{\nu}, \tag{2}$$

kde konstantami úměrnosti jsou opět rychlost světla a Planckova konstanta h.[3]

1.2 Chirální látky

Molekuly zkoumané látky lze pro účely chiroptické spektroskopie rozdělit do dvou základních skupin, na chirální (opticky aktivní) a achirální. Kritérii k jejich rozlišení jsou tři vlastnosti symetrie: (a) zrcadlová symetrie — existuje-li rovina zrcadlení v prostorovém uspořádání molekuly, (b) rotačně-zrcadlová symetrie — kdy aplikací vhodné rotace a následné reflexe dostaneme

stejné prostorové uspořádání jako na počátku a (c) inverzní symetrie — zahrnující zobrazení atomu molekuly přes její střed na opačnou stranu. Vykazuje-li molekula alespoň jednu z uvedených symetrií nazývá se achirální. Molekula látky může mít i další druhy symetrií než výše uvedené. Jejich definice jsou součástí teorie bodových grup.[4]

Chirální molekuly nevykazují ani jednu ze zmíněných symetrií, tudíž nejsou ztotožnitelné s jejich zrcadlovým obrazem. Vzor a jeho zrcadlový obraz tvoří pár opačných enantiomerů, které mají rozdílné chemické a optické vlastnosti. Látka tvořená pouze jedním enantiomerem se označuje za opticky čistou. Chiralita látek se dále rozlišuje na centrální, osovou, planární, spirálovitou a šroubotivou chiralitu a na základě určitých výběrových pravidel jim lze přiřadit konfigurační označení *(R)* pro pravotočivé, resp. *(S)* pro levotočivé enantiomery.

Specifikace chirálních molekul nezahrnuje pouze jejich absolutní konfiguraci, ale také převažující orientace skupin atomů (ligandů) okolo jednoduché, resp. dvojné vazby, případně dle zvlnění prstencové struktury vůči rovině u cyklických molekul. Tyto rozdílné konformace mohou mít různou energii, přičemž některé z nich mohou být energeticky preferovanější. Přitom konformace samotnou absolutní konfiguraci molekuly neovliňují, ale mohou mít vliv na její chiroptické vlastnosti.[3]

1.3 Born - Oppenheimerova aproximace

Mějme celkovou energii molekuly ve formě Hamiltoniánu

$$\hat{H}^{TOT} = \hat{T}^{nuc}_{\mathbf{R}} + \hat{T}^{el}_{\mathbf{r}} + V(\mathbf{r}, \mathbf{R}), \tag{3}$$

kde

$$\hat{T}^{nuc}_{\mathbf{R}} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_A \frac{1}{M_A} \nabla^2_A, \tag{4a}$$

$$\hat{T}^{el}_{\mathbf{r}} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla^2_i, \tag{4b}$$

$$V(\mathbf{r}, \mathbf{R}) = \sum_A \sum_{B>A} \frac{Z_A Z_B e^2}{R_{AB}} - \sum_A \sum_i \frac{Z_A e^2}{r_{Ai}} + \sum_j \sum_{i>j} \frac{e^2}{r_{ij}}, \tag{4c}$$

reprezentují popořadě operátor kinetické energie všech jader, kinetické energie všech elektronů a potenciální energie, složený z Coulombovské odpudivé síly mezi jádry, přitažlivé síly mezi jádry a elektrony a Coulombovské odpudivé síly mezi elektrony. $\mathbf{R}$ a $\mathbf{r}$ jsou vektory polohy jader a elektronů, M_A jsou hmotnosti jader, m_e hmotnost elektronů, veličiny Z zastupují protonová čísla jader, e velikost náboje elektronu a $\hbar$ je redukovaná Planckova konstanta. Indexy A, B

označují jádra a i, j elektrony. Za předpokladu, že lze vlnovou funkci molekuly separovat na jadernou a elektronovou část

$$\Psi_{N,n}(\mathbf{r},\mathbf{R}) = \chi_N^{nuc}(\mathbf{R})\psi_n^{el}(\mathbf{r},\mathbf{R}) \tag{5}$$

a platí podmínka $M_A \gg m_e$, potom ve Schrödingerově stacionární rovnici (bez relativistické korekce)

$$\hat{H}^{TOT}\Psi_{N,n} = E_{N,n}\Psi_{N,n} \tag{6}$$

lze zanedbat pohyb jader a (6) rovněž separovat na jadernou a elektronovou část. Toto zjednodušení je principem Born - Oppenheimerova aproximace. V elektronové Schrödingerově rovnici

$$\left[\hat{T}_{\mathbf{r}}^{el} + V(\mathbf{r},\mathbf{R})\right]\psi_n^{el} = \varepsilon_n(\mathbf{R})\psi_n^{el} \tag{7}$$

sice nadále figuruje poloha jader R, ale pouze jako parametr. Pomocí elektronové energie $\varepsilon_n(\mathbf{R})$ z řešení (7) je možné jadernou Schrödingerovu rovnici psát jako

$$\left[\hat{T}_{\mathbf{R}}^{nuc} + \varepsilon_n(\mathbf{R})\right]\chi_N^{nuc}(\mathbf{R}) = E_{n,N}\chi_N^{nuc}(\mathbf{R}), \tag{8}$$

kde $\varepsilon_n(\mathbf{R})$ vystupuje už jako potenciál pohybů jader. Indexy n a N jsou kvantová čísla elektronů a jader.[5, 6]

1.4 Definice normálních vibračních módů v harmonické aproximaci

Taylorův rozvoj potenciálu $\varepsilon_n(\mathbf{R})$ z rovnic (7, 8) lze v blízkosti minima (rovnovážné polohy jader) zapsat jako

$$\begin{aligned}\varepsilon_n(\mathbf{R}_1,\ldots,\mathbf{R}_N) = \varepsilon_n(\mathbf{R}_1^0,\ldots,\mathbf{R}_N^0) + \sum_{J=1}^{N}\frac{\partial\varepsilon}{\partial R_{J,\alpha}}\left(R_{J,\alpha} - R_{J,\alpha}^0\right) + \\ + \frac{1}{2}\sum_{J,K=1}^{N}\frac{\partial^2\varepsilon}{\partial R_{J,\alpha}\partial R_{K,\beta}}\left(R_{J,\alpha} - R_{J,\alpha}^0\right)\left(R_{K,\beta} - R_{K,\beta}^0\right) + \ldots,\end{aligned} \tag{9}$$

kde první derivace je gradientem energie a matice druhých derivací silovým polem FF (Hessiánem). Vhodnou volbou nulové energie v rovnovážné geometrii (těžišti molekuly) $\mathbf{R}^0$ vymizí první člen rozvoje. Také druhý člen musí být v energetickém minimu roven nule a Hessián musí být pozitivně definitní. Při harmonické aproximaci nejsou členy vyšších řádů Taylorova rozvoje do rovnice (9) zahrnuty.

Rovnice (8) má pro N jader $3N$ stupňů volnosti, z nichž 3 náleží translacím, 3 rotacím a $3N-6$ vibracím ($3N-5$ v případě lineárních molekul). Při splnění Eckartových podmínek pro separaci

celkového translačního a rotačního pohybu je možné vibrační část rovnice (8) s využitím (9) psát jako

$$\hat{H}_{VIB}\phi_n(\mathbf{R}) = \left[-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{i=1}^{3N-6} \frac{1}{M_i} \frac{\partial^2}{\partial X_i^2} + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{3N-6} f_{ij}^n \Delta X_i \Delta X_j \right] \phi_n(\mathbf{R}) = E_n \phi_n(\mathbf{R}). \tag{10}$$

Členy f_{ij}^n tvoří nenulové prvky (silové konstanty) výše uvedeného Hessiánu a $X_i = R_{J,\alpha}$, kde α označuje tři souřadnice každého polohového vektoru. Zavedením transformace kartézských souřadnic do normálních módů

$$Q_k = \sum_{j=1}^{3N} S_{kj}^{-1} \Delta X_j \text{ pro } k = 1, 2, \ldots, 3N, \tag{11}$$

lze dospět k nové vibrační Schrödingerově rovnici s vibračním Hamiltoniánem

$$\hat{H}_{VIB} = \sum_{j=1}^{3N} \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2}{\partial Q_j^2} + \omega^2 Q_j^2 \right) = \sum_{j=1}^{3N} \hat{H}_j \tag{12}$$

a vlnovou funkcí

$$\psi_n = \prod_{j=1}^{3N} \varphi_j(Q_j). \tag{13}$$

Tato Schrödingerova rovnice se skládá ze $3N$ rovnic pro každý normální mód

$$\hat{H}_j \varphi_j = \left(\frac{1}{2} + n_j \right) \hbar \omega_j \varphi_j. \tag{14}$$

Pravá strana rovnice (14) odpovídá energetickým stavům harmonického oscilátoru s úhlovou frekvencí ω_j a kvantovým číslem n_j. Veličina φ_j je vlnová funkce j-tého normálního módu. Pro 6 normálních módů příslušících translačním a rotačním pohybům je frekvence $\omega_j = 0$. Aby transformace (11) byla inverzní, bylo třeba ji zadefinovat pro všech $3N$ souřadnic N atomové molekuly. K nenulovým elementům ω_j odpovídajícím $3N - 6(5)$ vibračním stupňům volnosti je možné dospět diagonalizací matice silového pole f_{ij}^n, tj. nalezením souřadnic (normálních módů Q_j) takových, v nichž je matice silového pole diagonální. Transformační S-matici ve vztahu (11) lze potom jednoduše dopočítat.[5]

Parabolický tvar potenciální jámy harmonického oscilátoru je v mnoha ohledech vhodným modelem pro popis vibračních módů, nejedná se však o přesný model. Reálná molekula vykazuje asymetrický tvar potenciální jámy, vlivem silných odpudivých sil při přiblížení a slábnoucích přitažlivých sil při oddálení jader vůči sobě. Přesnější tvar jámy lze popsat empirickým Morseho potenciálem. Pro takový systém jednotlivé vibrační hladiny nejsou ekvidistantně vzdáleny a s rostoucí energií se k sobě přibližují. Popis pomocí anharmonického oscilátoru je nad rámec této diplomové práce a detailněji se této problematice věnuje například reference [4].

1.5 Teorie Ramanovy optické aktivity

Od 90. let 20. století se teorie Ramanovy optické aktivity prudce rozvíjí. Předmětem této diplomové práce není rešeršní shrnutí všech dosavadních odvozených metod. V tomto oddíle je uveden pouze nezbytně nutný teoretický základ pro popis ROA v nerezonanční aproximaci, konkrétně pro geometrii zpětného rozptylu ($180°$). Komplexní teorii ROA se v širším úhlu pohledu věnují například práce [7, 8].

Výchozím vztahem je výraz pro Ramanovu intenzitu systému molekul, jejichž orientace je zprůměrována vzhledem k laboratorní soustavě,

$$I(\tilde{e}^d, \tilde{e}^i) = K\left\langle \left| \tilde{e}^{d*}_\alpha \tilde{a}_{\alpha\beta} \tilde{e}^i_\beta \right|^2 \right\rangle, \tag{15}$$

kde $\mathbf{e}^i$ a $\mathbf{e}^d$ jsou polarizační vektory excitačního a rozptýleného záření v laboratorní soustavě, $\tilde{a}_{\alpha\beta}$ označuje Ramanův rozptylový tenzor a konstanta úměrnosti

$$K = \left(\frac{\omega^2 \mu_0 \tilde{E}^{(0)}}{4\pi R} \right)^2 . \tag{16}$$

Veličina μ_0 je magnetická permeabilita, $\tilde{E}^{(0)}$ je amplituda elektrického pole excitačního záření a R je vzdálenost od bodu rozptylu na detektor. Řecké indexy odpovídají kartézským složkám uvedených tenzorových veličin a vlnovkou je značená jejich komplexní hodnota. Opakující se dolní indexy podléhají Einsteinově sumační konvenci. Komplexní sdružení polarizačního vektoru $\tilde{e}^{d*}$ označuje proces emise. Konstanta K je úměrná čtvrté mocnině úhlové frekvence rozptylu ω za předpokladu, že $\tilde{E}^{(0)}$ budícího záření je v jednotkách [$\mathrm{W\,m^{-2}}$] a intenzita (15) ve [$\mathrm{W\,sr^{-1}}$]. V případě měření ve fotonech za sekundu je konstanta K úměrná třetí mocnině úhlové frekvence. Obecný tvar Ramanova rozptylového tenzoru

$$\tilde{a}_{\alpha\beta} = \tilde{\alpha}_{\alpha\beta} + \frac{1}{c}\left[\varepsilon_{\gamma\delta\beta} n^i_\delta \tilde{G}_{\alpha\gamma} + \varepsilon_{\gamma\delta\alpha} n^d_\delta \tilde{\mathcal{G}}_{\gamma\beta} + \frac{1}{3}\left(\omega_0 n^i_\gamma \tilde{A}_{\alpha,\gamma\beta} - \omega n^d_\gamma \tilde{\mathcal{A}}_{\beta,\gamma\alpha} \right) \right] \tag{17}$$

se skládá z tenzoru elektrické dipólové polarizovatelnosti $\tilde{\alpha}_{\alpha\beta}$ a tenzorů magnetické dipólové optické aktivity ($\tilde{G}_{\alpha\beta}$, $\tilde{\mathcal{G}}_{\alpha\beta}$) a elektrické kvadrupólové optické aktivity ($\tilde{A}_{\alpha,\beta\gamma}$, $\tilde{\mathcal{A}}_{\alpha,\beta\gamma}$). Veličiny $\mathbf{n}^i$ a $\mathbf{n}^d$ jsou vektory šíření excitačního a rozptýleného záření, ω_0 je frekvencí budícího záření a $\varepsilon_{\gamma\delta\alpha}$ zde zastupuje Levi - Civitův permutační tenzor.

Je-li energie dopadajícího záření dostatečně vzdálená od energie elektronových přechodů molekuly, lze využít tzv. nerezonanční aproximace, při které se obecně komplexní tenzor dipólové polarizovatelnosti a dva kvadrupólové tenzory optické aktivity omezí pouze na reálnou část, zatímco zbylé dva tenzory magnetické dipólové optické aktivity budou tvořeny ryze imaginární částí, a to ve smyslu separace

$$\tilde{T} = T - \mathrm{i}T'. \tag{18}$$

Ramanovy přechodové tenzory tudíž nabývají tvaru

$$\alpha_{\alpha\beta} = \frac{2}{\hbar}\sum_{j\neq n}\frac{\omega_{jn}}{\omega_{jn}^2-\omega_0^2}\mathrm{Re}\Big\{\big\langle n\big|\hat{\mu}_\alpha\big|j\big\rangle\big\langle j\big|\hat{\mu}_\beta\big|n\big\rangle\Big\}, \tag{19a}$$

$$G'_{\alpha\beta} = -\frac{2}{\hbar}\sum_{j\neq n}\frac{\omega_{jn}}{\omega_{jn}^2-\omega_0^2}\mathrm{Im}\Big\{\big\langle n\big|\hat{\mu}_\alpha\big|j\big\rangle\big\langle j\big|\hat{m}_\beta\big|n\big\rangle\Big\}, \tag{19b}$$

$$A_{\alpha,\beta\gamma} = \frac{2}{\hbar}\sum_{j\neq n}\frac{\omega_{jn}}{\omega_{jn}^2-\omega_0^2}\mathrm{Re}\Big\{\big\langle n\big|\hat{\mu}_\alpha\big|j\big\rangle\big\langle j\big|\hat{\theta}_{\beta\gamma}\big|n\big\rangle\Big\}, \tag{19c}$$

kde $\omega_{jn} = \omega_j - \omega_n$ je úhlová frekvence přechodu mezi stavy j a n. Operátory $\hat{\mu}_\alpha$, $\hat{m}_\beta$ a $\hat{\theta}_{\beta\gamma}$ náleží popořadě elektrickému dipólovému momentu, magnetickému dipólovému momentu a elektrickému kvadrupólovému momentu z reference [7, str. 114]. S pomocí výše uvedených tenzorů se definují upravené tenzorové invarianty jako

$$\beta(\alpha)^2 = \frac{1}{2}\left(3\alpha_{\alpha\beta}\alpha_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha}\alpha_{\beta\beta}\right), \tag{20a}$$

$$\beta(G')^2 = \frac{1}{2}\left(3\alpha_{\alpha\beta}G'_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha}G'_{\beta\beta}\right), \tag{20b}$$

$$\beta(A)^2 = \frac{1}{2}\omega_0\alpha_{\alpha\beta}\varepsilon_{\alpha\gamma\delta}A_{\gamma,\delta\beta}, \tag{20c}$$

$$\alpha = \frac{1}{3}\alpha_{\alpha\alpha} \quad \text{a} \quad G' = \frac{1}{3}G'_{\alpha\alpha}. \tag{20d}$$

Rovnice (20) jsou invariantní vůči volbě kartézských souřadnic v molekulárním systému, tj. s rotací molekuly se v této vztažné soustavě nemění.

V nerezonanční aproximaci je pak možné zavést obecné rovnice sumární Ramanovy intenzity (CIS) a diferenční ROA intenzity (CID) prostřednictvím tenzorových invariantů (20) jako

$$I(R) + I(L) = 4K\big[D_1\alpha^2 + D_2\beta(\alpha)^2\big], \tag{21a}$$

$$I(R) - I(L) = \frac{8K}{c}\big[D_3\alpha G' + D_4\beta(G')^2 + D_5\beta(A)^2\big]. \tag{21b}$$

Hodnoty odpovídající parametrům D_1 – D_5 pro různá modulační schémata v geometrii zpětného rozptylu jsou uvedeny v tabulce 1. Pro modulační schémata ICP a SCP z tabulky 1 plyne, že jsou ekvivalentní, tj. mají stejné velikosti CIS i CID intenzity. Související bezrozměrnou veličinou užitečnou pro hodnocení kvality ROA spekter je normalizovaná diferenční cirkulární intenzita,[7] která je definovaná jako poměr

$$\Delta = \frac{I(R) - I(L)}{I(R) + I(L)}. \tag{22}$$

Pro aplikaci vztahů (19) na Ramanův rozptyl a ROA je třeba navíc najít jejich varianci pohybu jader, tj. první derivaci tenzorů polarizovatelnosti a optické aktivity podle normálních vibračních souřadnic Q_j. K tomu se, v případě omezení se na fundamentální přechody $|0\rangle \rightarrow |1_p\rangle$

Tab. 1: Koeficienty Ramanových a ROA invariantů v rovnicích (21) pro různá modulační schémata v geometrii zpětného rozptylu ($180°$).

	Raman		ROA parametry		
Forma	D_1	D_2	D_3	D_4	D_5
ICP	45	7	0	12	4
SCP	45	7	0	12	4
$\mathrm{DCP_I}$	0	6	0	12	4
$\mathrm{DCP_{II}}$	45	1	0	0	0

pro každý p-mód, využívá Placzekova aproximace,[9] která umožňuje vyjádřit vibrační vlnovou funkci funkcí harmonického oscilátoru a v Taylorově rozvoji se omezit pouze na členy s derivací nejvýše prvního řádu. To znamená, že konečné vztahy pro Ramanovu a ROA intenzitu lze získat s využitím následujících výrazů.[5]

$$\langle 0|\alpha_{\alpha\beta}|1_p\rangle\langle 1_p|\alpha_{\alpha\beta}|0\rangle = \frac{1}{2\omega_p}\left(\frac{\partial\alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_p}\right)\left(\frac{\partial\alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_p}\right) \tag{23a}$$

$$\langle 0|\alpha_{\alpha\beta}|1_p\rangle\langle 1_p|G'_{\alpha\beta}|0\rangle = \frac{1}{2\omega_p}\left(\frac{\partial\alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_p}\right)\left(\frac{\partial G'_{\alpha\beta}}{\partial Q_p}\right) \tag{23b}$$

$$\langle 0|\alpha_{\alpha\beta}|1_p\rangle\langle 1_p|\varepsilon_{\alpha\gamma\delta}A_{\gamma\delta\beta}|0\rangle = \frac{1}{2\omega_p}\left(\frac{\partial\alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_p}\right)\varepsilon_{\alpha\gamma\delta}\left(\frac{\partial A_{\gamma\delta\beta}}{\partial Q_p}\right) \tag{23c}$$

1.6 Simulace spekter pomocí kvantově - chemických výpočetních metod

V současné době existuje celá řada výpočetních metod, jakožto simulačních nástrojů k interpretaci nejen Ramanových a ROA spekter. Tyto metody jsou založeny na různě přesných a výpočetně náročných aproximačních přístupech k Schrödingerově rovnici popisující daný molekulární systém.

Ab initio výpočetní metody

Ab initio výpočetní metody, neboli výpočty z prvotních principů, poskytují přesnou a univerzální cestu k popisu spektrálních vlastností látek. Pro simulaci Ramanových a ROA spekter je

nutné nejprve optimalizovat geometrii molekuly, a poté vypočítat vibrační frekvence a spektrální intenzity.

Optimalizace geometrie se provádí minimalizací energie (9). Cenným indikátorem lokálního minima je již zmíněný Hessián, jehož vlastní čísla musí být v takovém případě nezáporná a gradient energie musí být roven nule. Při výpočtech byly využívány dvě optimalizační procedury; optimalizace za pomocí redundantních vnitřních souřadnic,[10, 11] jenž je základní optimalizační procedurou programu Gaussian 09,[12] a optimalizace dle normálních vibračních módů v programu QGRAD.[13, 14]

Pro výpočet harmonických frekvencí se často využívá diagonalizace Hessiánu teoreticky popsaná v kapitole 1.4. Ta je velmi dobře implementovaná prostřednictvím analytických gradientních technik v řadě dostupných programů (Gaussianu 09). Pro intenzity Ramanových a ROA spekter je nutné vyhodnotit derivace přechodových tenzorů z kapitoly 1.5, které jsou díky své náročnosti řešeny numericky.[6, 15]

Teorie elektronové hustoty (DFT) je jednou z nejrozšířenějších *ab initio* metod usnadňujících výpočet spekter. Principem DFT je redukce proměnných nahrazením vlnové funkce hustotou elektronů. Kohn - Shamova formulace DFT[16] je rozšířením Hartree - Fockovy metody o korelační energie elektronů a dala za vznik stovkám funkcionálů pro výměnnou a korelační energii elektronů s cílem přiblížit se s výsledky k Schrodingerově limitu. Veškeré výpočty uvedené v této diplomové práci byly simulovány za pomoci tříparametrového Beckeho hybridního funkcionálu B3PW91.[17]

Většina výpočetních metod vyžaduje přiřazení báze atomových orbitalů, která popisuje distribuci elektronů okolo molekuly. S volbou větší báze roste přesnost simulovaných spekter, ale zároveň i výpočetní náročnost. Při aproximaci atomových orbitalů Gaussovskými funkcemi je doba výpočtu celkové energie úměrná $\sim N^{2.5}$ pro N elektronů.[6]

Je třeba poznamenat, že absolutní shodu vypočtených frekvencí s experimentem nelze při harmonické aproximaci očekávat. Lepších výsledky lze dosáhnout zahrnutím anharmonických korekcí do výpočtů, ty jsou ale výpočetně více náročné. Pro simulaci hlavních spektrálních rysů je harmonické přiblížení dostačující. Další omezení plyne z nedostatků modelů rozpouštědla kolem zkoumané molekuly, nepřesností použitých funkcionálů a konečné velikosti báze.

Molekulární dynamika

Molekulární dynamika (MD) je založena na popisu časového vývoje molekulárních systémů na základě numerického řešení klasických Newtonových pohybových rovnic $\mathbf{F}_i = m_i\mathbf{a}_i$ pro každou i-tou částici systému. Sílu $\mathbf{F}_i$ lze získat derivací potenciální energie mechanického modelu

molekuly o N atomech, definovanou obecně ve tvaru[6]

$$V = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i<j}} 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{6} \right] + \sum_{vazby,i} k_i \left(d_i - d_{0i} \right)^2 + \sum_{uhly,i} k_{\alpha i} \left(\alpha_i - \alpha_{0i} \right)^2 + \\ + \sum_{torze,i} \left[A_{1i} \cos(\tau_i) + A_{2i} \cos(2\tau_i) + A_{3i} \cos(3\tau_i) \right] + \sum_{oop,i} k_{oopi} s_i^2 + \sum_{\substack{i,j=1 \\ i<j}} \frac{1}{4\pi\varepsilon} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}. \tag{24}$$

Členy rovnice (24) odpovídají postupně Lennard - Jonesovu potenciálu (blízké přitažlivé a odpudivé síly), vazebnímu potenciálu mezi dvojicí atomů, potenciálu pro úhel mezi dvěma vazbami, potenciálu torzního úhlu (rotace kolem vazby), potenciálu pro odchylku od roviny („out of plane“) tvořenou čtyřmi atomy a poslední člen je Coulombovská interakce. Uvedená potenciální energie popisuje jen nutné minimum interakcí a lze ji doplnit o další členy, například deformační členy, anharmonické korekce... apod. Sada parametrů v rovnici (24), také označována jako „silové pole“, je dostupná pro různé skupiny molekul v archivech výpočetních programů, např. TINKER[18], který byl použit i v této práci pro implementaci explicitních molekul rozpouštědla.

1.7 Modely rozpouštědla

Měřená ROA spektra reflektují nejen molekulární strukturu, ale také dynamiku a interakci zkoumané látky s prostředím. Zejména pro biologicky významné polární molekuly ve vodném prostředí způsobuje neúplné zahrnutí vlivů rozpouštědla značné chyby ve výpočtech a následné analýze naměřených dat. V případě silných interakcí rozpuštěné látky s rozpouštědlem, jako je například vznik vodíkových vazeb, nemusí být jednoduché modely dostatečně přesné. Mnohdy je také komplikovaná separace spektrálního signálu rozpouštědla od zkoumané látky v nízkofrekvenční oblasti. Z těchto a dalších důvodů je nezbytné mít dostatečně přesný a přitom jednoduchý model rozpouštědla pro popis vlivů na zkoumanou látku.[19]

Implicitní model COSMO

Možnost analytického zahrnutí modelů rozpouštědla do *ab initio* výpočtů je dnes už běžnou součástí výpočetních programů a vede k věrohodnější analýze zkoumaných systémů. Tyto univerzální modely tvarují kolem atomů molekuly dutinu dle molekulárního povrchu (soubor překrývajících se sfér o specifickém průměru) a odezvy molekuly na samoindukované elektrostatické pole v dielektriku (self-consistent reaction field). Výchozím modelem této metody je PCM (polarizable continuum model).[20]

Kontinuální model COSMO (conductor-like screening model)[21] simuluje vlastnosti rozpouštědla na hranici kavity modelu, jakoby se jednalo o dokonalý vodič. CPCM je označení implementace COSMO modelu na kavitu PCM modelu v programu Gaussian 09. Povrch dutiny je rozdělen na malé trojúhelníkové segmenty a náboj se počítá numericky na jednotlivých segmentech. Majoritním parametrem určujícím druh rozpouštědla je elektrická permitivita.

Explicitní model rozpouštědla

Alternativně mohou být jednotlivé molekuly rozpouštědla explicitně zahrnuty do *ab initio* výpočtů tak, že počáteční geometrie jsou generovány pomocí molekulární dynamiky uvedené v předchozí kapitole 1.6. Tento přístup je v důsledku velkého počtu atomů časově náročnější než implicitní model rozpouštědla a rovněž vyžaduje více pozornosti vzhledem k průměrování jednotlivých atomových konfigurací generovaných termodynamickým vývojem systému v daných časových intervalech. Použití částečné optimalizace v normálových módech je u explicitních modelů klíčová ke zrelaxování vysokofrekvenčních módů. Explicitní molekuly rozpouštědla první solvatační sféry významně ovlivňují intenzity Ramanových a ROA spekter.[19, 22, 23]

Výše zmíněné modely je možné kombinovat, tzn. vložit systém složený z molekul rozpouštědla a studované molekuly do kavity COSMO modelu.

Jeden z výrazných limitujících faktorů uvedených modelů je nedostatečný popis vodíkových vazeb. Implicitní model (PCM) je vhodným modelem pouze v případě nepolárních rozpouštědel, netvořících vodíkové vazby se zkoumanou látkou. U polárních rozpouštědel hraje velkou roli nejen počet molekul rozpouštědla účastnících se vodíkové vazby, ale rovněž jejich samotná orientace vůči studované molekule. Nejpoužívanějším rozpouštědlem v Ramanově optické aktivitě je voda, z toho důvodu má analýza vodíkových vazeb pro tuto chiroptickou spektrální techniku velký význam.[24]

1.8 Faktor vnitřního zesílení

Pozorovaný zářivý tok Ramanových spektrálních čar vycházející se vzorku je úměrný absolutnímu průřezu vyzařovaného Ramanova signálu pod daným prostorovým úhlem, který je normován vůči excitační frekvenci (viz rovnice 2.4-6, ref. [25]). Mezi konstantami úměrnosti zde figuruje mimo jiné i faktor vnitřního zesílení

$$L_n = \left(\frac{n_R}{n_0}\right)\left(\frac{\left(n_R^2+2\right)^2\left(n_0^2+2\right)^2}{3^4}\right), \tag{25}$$

jenž zohledňuje zesílení dopadajícího elektrického pole vzhledem k dielektrické podstatě vzorku. Veličiny n_0 a n_R značí indexy lomu měřeného vzorku pro vlnové délky budícího a rozptýleného záření. Za předpokladu $n_0 \simeq n_R$ lze tento vztah zjednodušit na

$$L_n \approx \left(\frac{n^2+2}{3}\right)^4. \tag{26}$$

Tyto vztahy jsou odvozeny pro vzorky sférického tvaru, tudíž jej lze využít především pro popis teoretických modelů Onsagerova typu. V případě reálného měření se využívá kyvety s rovinnou vstupní plochou, a proto je třeba faktor vnitřního zesílení navíc podělit n^2 z důvodu lomu záření do většího prostorového úhlu na rovinném rozhraní.[25, 26]

2 Experimentální část

2.1 Experimentální uspořádání

Ramanův rozptyl je dvoufotonový proces. Je tedy závislý na vlastnostech budícího a rozptýleného záření ve zkoumané látce. Dále také lineárně závisí na koncentraci analyzovaného vzorku a intenzitě ozáření.

Volba excitační frekvence záření ovlivňuje detekovaný Ramanův signál. Optimální zdroje excitačního záření pro ROA spektroskopii jsou lasery s emisí na vlnových délkách kolem $500\,\mathrm{nm}$. Jelikož většina moderních detektorů pracuje v režimu detekce jednotlivých fotonů, je počet detekovaných fotonů Ramanovy a ROA intenzity úměrné třetí a čtvrté mocnině frekvence.[15]

Dalším ze základních parametrů ovlivňujících poměr signálu a šumu (SNR) je geometrie experimentu, která je definována volbou úhlu detekce Ramanova rozptylu a ROA. Zpravidla se volí konfigurace $0°$, $90°$ a $180°$ (úhel θ na obr. 1), přičemž signál ROA je maximální v geometrii zpětného rozptylu ($180°$).

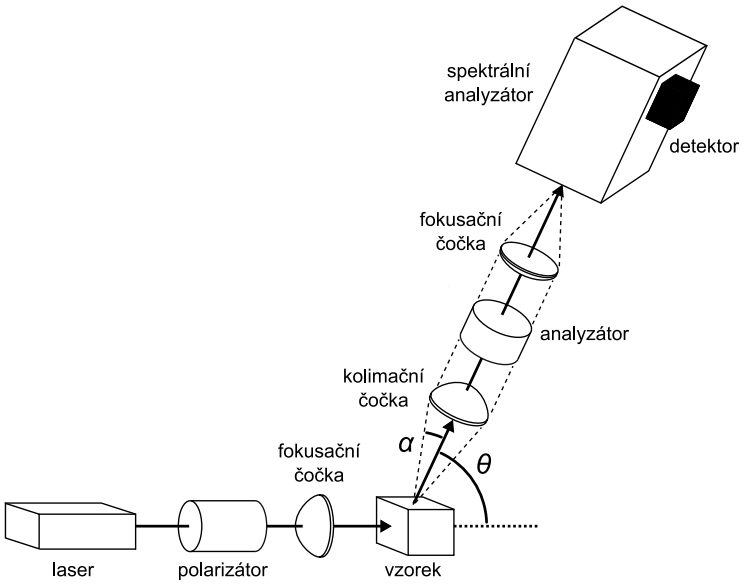
V experimentální sestavě ROA se rovněž volí modulační schéma, což je volba polarizačního stavu excitačního a detekovaného záření. Rozlišují se ICP, SCP, $\mathrm{DCP_I}$ a $\mathrm{DCP_{II}}$ schémata. Při SCP modulaci je vzorek ozařován efektivně nepolarizovaným zářením a detekuje se simultánně pravo- a levotočivá kruhová polarizace Ramanova záření.

Jelikož je Ramanův rozptyl velmi slabým jevem a ROA je ještě asi o 3 – 5 řádů slabší, nelze se při měření vyhnout systematickým chybám, „artefaktům“. Jejich nejčastější příčinou jsou nedokonalosti použitých optických komponent. Artefakty lze rozpoznat změřením obou dostupných enantiomerů.[27]

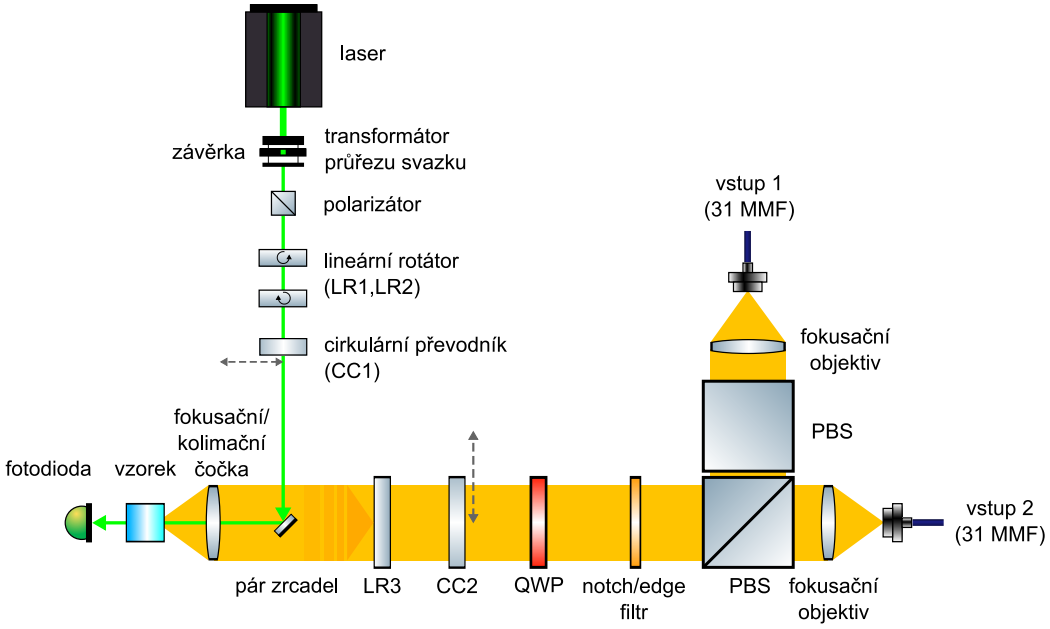
Popis ROA spektrometru

Všechna měření prezentovaná v předkládané diplomové práci byla realizována na ROA spektrometru založeném na SCP modulaci v geometrii zpětného rozptylu. Tento spektrometr byl postaven na Katedře optiky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Jeho schéma je bez detekční části (mřížkového spektrografu) uvedeno na obr. 2.

ROA spektrometr obsahuje řadu optických polarizačních komponent sloužících k modulaci polarizačního stavu monochromatického excitačního záření a rozptýleného polychromatického záření. Optické prvky mohou být do optické dráhy vloženy napevno (polarizátor, polarizační dělič), rotovat přesně danou rychlostí (lineární rotátory), zasouvány do optické dráhy v určitých intervalech (cirkulární převodníky). Zvolením vhodného algoritmu spouštění jednotlivých komponent lze docílit různých modulačních schémat z tabulky 1.



Obr. 1: Obecné schéma ROA spektrometru. Veličina θ je úhel detekce Ramanova záření a α je kolekční úhel spektrometru. Převzato z [15].



Obr. 2: Schéma spektrometru pro měření Ramanovy optické aktivity.[28]

Schéma spektrometru pro měření Ramanovy optické aktivity na obr. 2 se skládá z: laseru $532\,\mathrm{nm}$, transformátoru průřezu svazku s vestavěnou závěrkou, lineárního polarizátoru, dvojice protiběžných lineárních rotátorů LR1 a LR2 (dvě půlvlnové destičky ke generaci efektivně nepolarizovaného záření), cirkulárního převodníku CC1 (zásuvná půlvlnová destička), páru zrcadel, čočky fokusující svazek na vzorek a kolimující zpětně rozptýlené záření, lineárního rotátoru LR3 (rotující půlvlnová destička), cirkulárního převodníku CC2 (zásuvná půlvlnová destička), čtvrtvlnové destičky QWP, notch/edge filtru (hranový nebo úzkopásmový filtr, nepropouští Rayleighovo záření), dvojice polarizačních děličů svazku PBS, fokusačních objektivů a vstupů optických multimódových vláken (převod záření do spektrografu).

2.2 Realizace experimentu

Za předmět zkoumání byla vybrána molekula kafru, na obr. 3. Kafr je organická látka tvořená dostatečně rigidními molekulami, a proto lze u ní očekávat relativně jednoduše interpretovatelné spektrum vhodné na analýzu vlivů prostředí. Je navíc možné připravit koncentrované roztoky, poskytující spektra s vysokým poměrem signálu a šumu. Ramanova a ROA spektra byla měřena pro oba enantiomery kafru.

Kafr je dobře rozpustný v celé řadě rozpouštědel. Vybranými zástupci polárních rozpouštědel byly metanol a voda a ze skupiny nepolárních rozpouštědel cyklohexan a tetrachlormetan. Jejich index lomu n a relativní permitivita ε_r jsou uvedeny v tabulce 2. Kafr,[1] metanol[2] a cyklohexan[3] vysoké čistoty byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich. Dále byla použita deionizovaná voda a tetrachlormetan. Oba enantiomery kafru byly váženy na digitálních vahách s přesností na desetiny miligramu do skleněných baněk o objemu $(5{,}000 \pm 0{,}025)\,\mathrm{ml}$ ($(100{,}0 \pm 0{,}5)\,\mathrm{ml}$ v případě vody). Vzorky byly měřeny v kyvetách o průřezu $3 \times 4\ \mathrm{mm}$ (SiO_2 s antireflexním pokrytím) a objemu ~ 70 µl. V tabulce 3 jsou uvedeny parametry měřených vzorků spolu s podmínkami měření. Při odečítání Ramanova signálu rozpouštědla a čelní stěny kyvety od signálu měřeného vzorku byl zvolen odečítací koeficient K, jež lze ve vztahu k měřeným spektrům symbolicky vyjádřit jako

$$I'_{RAM} = (I_{RAM} - I_{RAM_{bk}})_{\mathrm{sol}} - K\,(I_{RAM} - I_{RAM_{bk}})_{\mathrm{solv}}\,, \tag{27}$$

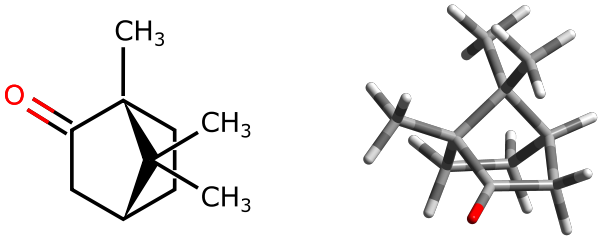
kde $I_{RAM_{bk}}$ značí Ramanův signál pozadí měřený za stejných podmínek jako vzorek I_{RAM}. Po opakovaném měření čtyř vzorků R-enantiomeru kafru v metanolu o koncentraci $200{,}02\,\mathrm{mg/ml}$

[1] (1R)-(+)-Camphor: 857300-100G, (1S)-(–)-Camphor: 279676-5G

[2] Methanol: 34885-1L-R

[3] Cyclohexane: 34855-1L

byla stanovena relativní nejistota odečítacího koeficientu $\pm 1\,\%$, což je srovnatelné s fluktuacemi ve výkonu použitého laseru.



Obr. 3: 2D a 3D model R-enantiomeru kafru.

Tab. 2: Parametry použitých rozpouštědel seřazeny dle indexu lomu.

Rozpouštědlo	Vzorec	Index lomu $n(532\,\mathrm{nm})$	Relativní permitivita ε_r
vakuum	-	1,0000	1,0000
metanol	CH_3OH	1,3288	32,6130
voda	H_2O	1,3337	78,3553
cyklohexan	C_6H_{12}	1,4279	2,0165
tetrachlormetan	CCl_4	1,4629	2,2280

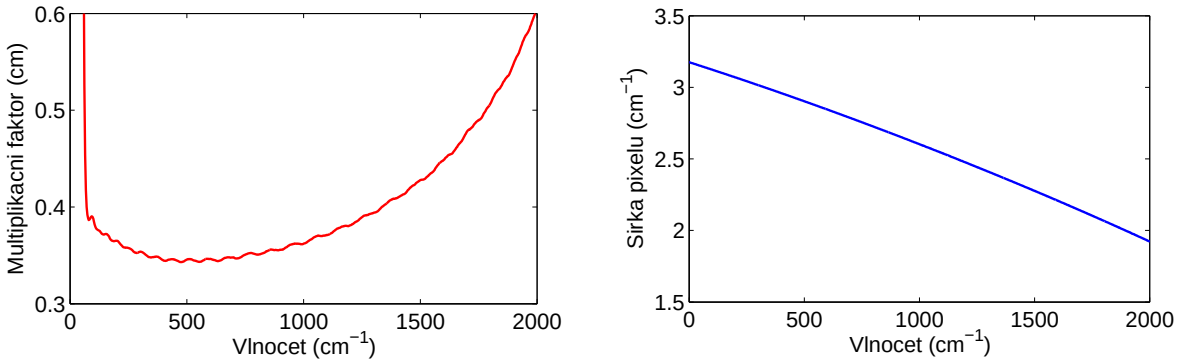
Výsledná Ramanova a ROA spektra pro oba enenatiomery kafru jsou uvedena v kapitole 4. Ramanova intenzitní stupnice se obyčejně uvádí v „ADC counts“, kterou lze snadno převést na počet elektronů e^- pomocí zisku detektoru. Níže zobrazená experimentální spektra jsou prezentována v jednotkách ($\mathrm{e}^-\,\mathrm{cm\,J^{-1}\,g^{-1}\,L}$), jelikož byla navíc provedena intenzitní kalibrace pomocí kalibrovanné spektrální záře zdroje HL-3-CAL od Ocean Optics (viz obr. 4a). Tato křivka byla násobena tak, aby její minimum odpovídalo šířce pixelu detektoru. Spektrální šířka pixelu je uvedena na obr. 4b. Poněvadž byla experimentální data sbírána za různých akumulačních časů, výkonu laseru a při rozdílných koncentracích, je navíc Ramanova a ROA intenzita normována na jednotku excitační energie J a koncentraci $1\,\mathrm{mg/mL}$ analyzované látky v rozpouštědle. Tato škálovací procedura umožňuje srovnat a interpretovat data získaná za různých podmínek.[29]

K potlačení šumu bylo na každé spektrum aplikováno Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu. V případě slabého ROA signálu vody byl S-enantiomer zrcadlově převrácen

a využit k váženému průměru s R-enantiomerem pro dosažení lepšího poměru mezi signálem a šumem.

Tab. 3: Parametry měřených vzorků a podmínky měření, kde c značí hmotnostní koncentraci kafru v rozpouštědle, P_S je výkon laseru centrální vlnové délky $532\,\mathrm{nm}$ dopadající na vzorek, E je celková excitační energie a K je odečítací koeficient rozpouštědla pro měřené Ramanovo spektrum. Vzorky označené hvězdičkou byly z důvodu prachových nečistot filtrovány pomocí centrifugačních filtrů PTFE (Millipore) s velikostí pórů $0{,}44\,\mu\mathrm{m}$ a jejich koncentrace je tedy díky vypařování rozpouštědla vyšší.

Rozpouštědlo	Enantiomer	$c\,[\mathrm{mg/ml}]$	$P_S\,[\mathrm{mW}]$	$E\,[\mathrm{kJ}]$	K
CH_3OH	R	200 ± 1	296	2,8	0,798
CH_3OH	S	200 ± 1	625	9,4	0,789
H_2O	R	1.010 ± 0.005	726	135,2	1,069
H_2O	S	1.004 ± 0.005	726	187,7	1,052
C_6H_{12}	R	200 ± 1	168	5,2	0,636
C_6H_{12}	S	200 ± 1*	169	3,1	0,723
CCl_4	R	200 ± 1	169	3,1	0,755
CCl_4	S	200 ± 1*	169	4,6	0,698



(a) **(b)**

Obr. 4: Grafy korekce relativní intenzity. **(a)** Kalibrační křivka HL-3-CAL od Ocean Optics. **(b)** Spektrální šířka pixelu použitého spektrografu.

3 Metodika simulací spekter

V této kapitole jsou zmíněny konkrétní výpočetní kroky simulačních metod, které byly na základě teorie popsané v kapitole 1.6 a 1.7 provedeny pro interpretaci Ramanových a ROA spekter molekuly kafru v různých rozpouštědlech.

3.1 Molekula kafru v implicitních modelech

Molekula R-enantiomeru kafru byla modelována v programu MCM 95.[30] Její geometrie byla optimalizována s využitím hybridního funkcionálu B3PW91 a báze atomových orbitalů 6-31G** v programu Gaussian 09 a to jak ve vakuu, tak s použitím implicitních modelů PCM a CPCM pro všechna výše uvedená rozpouštědla. Vibrační frekvence a ROA intenzity byly vyhodnoceny na stejné výpočetní úrovni. Pro CPCM modely rozpouštědel byly jejich geometrie reoptimalizovány a spektra vyhodnocena i v dalších bázích rozdílných velikostí (6-31G, 6-311G, 6-311G**, 6-31++G**, 6-311++G**, aug-cc-pVTZ), čímž byla zkoumána jejich přesnost s ohledem na experimentální data a vůči ostatním implicitním modelům.

3.2 MD simulace kafru s molekulami rozpouštědla

Při explicitní implementaci molekul rozpouštědla do výpočtů bylo využito molekulární dynamiky programu TINKER[18] se silovým polem z programových balíků Oplsaal[31] pro kafr, metanol a cyklohexan a Oplsaa[32] pro tetrachlormetan. Absence silového pole cyklohexanu byla vyřešena použitím alkanových skupin balíku Oplsaal. Tato alternativa byla pro účely simulace rozpouštědla dostačující.

Pro každý případ MD byl vytvořen kubický box, jehož délka strany a celkový počet molekul rozpouštědla jsou pro přehlednost shrnuty v tabulce 4. Na hranicích boxu byly zajištěny periodické podmínky, a poté se box nechal dynamicky vyvíjet jako kanonický (NVT) ensemble za teploty $298\,\mathrm{K}$ po dobu $1\,\mathrm{ps}$ (1000 MD kroků, $1\,\mathrm{fs}$ integrační čas). Následně byla molekula kafru vložena do tohoto boxu a opět byl spuštěn dynamický vývoj k nastolení rovnováhy systému tentokrát po dobu $1\,\mathrm{ns}$ (kanonický ensemble, teplota $298\,\mathrm{K}$, $1\,000\,000$ MD kroků, $1\,\mathrm{fs}$ integrační čas). U vody byl pro lepší průběh dynamiky nejprve vytvořen box menší velikosti ($9{,}95$ Å) a před zahrnutím molekuly kafru rozšířen na osminásobek svého objemu. V průběhu dynamického vývoje systému bylo uloženo 1000 geometrií (snapshots), resp. 100 geometrií v případě C_6H_{12}. Před každým dynamickým vývojem systému byla nutná minimalizace energie prostřednictvím

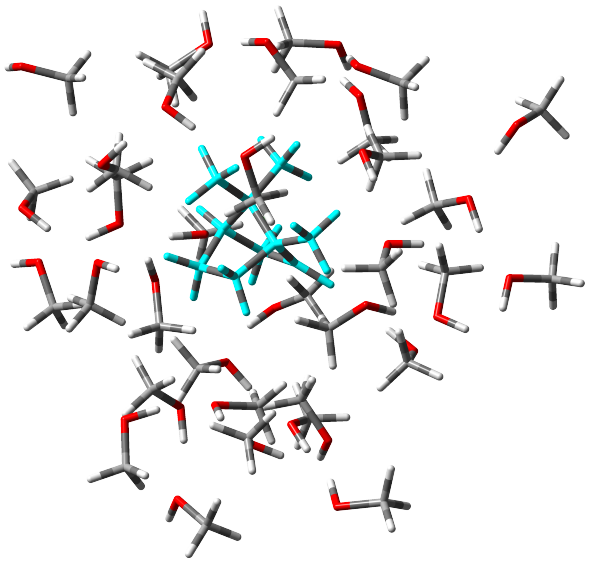
„Limited-memory BFGS Quasi-Newton“ optimalizačního algoritmu v programu TINKER. Výřez první kompletní solvatační sféry okolo molekuly kafru (klastru) byl proveden v programu Xshell[33] s vhodně zvolenou vzdálenosti výřezu od molekuly kafru. Počet molekul rozpouštědla v takto získaných klastrech ukazuje interval v posledním sloupci tabulky 4 a ilustrace na obr. 5.

Tab. 4: Parametry použité při tvorbě explicitních modelů metodou MD.

Rozpouštědlo	Délka strany boxu [Å]	Počet molekul rozpouštědla	Vzdálenost výřezu 1. solv. sféry [Å]	Počet molekul v klastru
CH_3OH	23,00	181	4,0	19 – 38
H_2O	19,91	264	4,5	38 – 54
C_6H_{12}	41,98	412	4,0	12 – 16
CCl_4	27,05	123	4,5	11 – 18

Ze souboru klastrů MD byl vybrán reprezentativní vzorek 15 klastrů, jenž byly optimalizovány metodou částečné optimalizace dle normálních vibračních módů v programu QGRAD.[34] QGRAD je propojen s Gaussianem 09, který vykonává jednotlivé *ab initio* výpočty. Během optimalizace byly zafixovány módy v intervalu od $-100\,\mathrm{cm}^{-1}$ do $200\,\mathrm{cm}^{-1}$, což zajistilo minimální změny MD geometrie za nezbytné relaxace vysokofrekvenčních módů. Optimalizace geometrie klastru, harmonické vibrační frekvence a spektrální intenzity Ramana a ROA byly řešeny opět metodou B3PW91/6-31G** za excitační vlnové délky $532\,\mathrm{nm}$. Každý klastr explicitního modelu byl navíc spočítán v kombinaci s implicitním CPCM modelem. Do výsledků byl zahrnut aritmetický průměr 15 klastrů.

Tvar spektrálních čar byl simulován konvolucí vygenerovaných intenzit s Lorentzovskou funkcí o šířce v polovině maxima $\mathrm{FWHM} = 10\ \mathrm{cm}^{-1}$. Boltzmannova teplotní korekce tvaru spektra byla nastavena na teplotu $295\,\mathrm{K}$. Spektrální signál pocházející od samotných molekul rozpouštědla byl odstraněn v celém spektrálním rozsahu vynulováním derivací tenzorů polarizovatelnosti a optické aktivity pro všechny atomy rozpouštědla.



Obr. 5: Klastr R-enantiomeru kafru (azurová barva) s kompletní 1. solvatační sférou metanolu (29 explicitně vložených molekul CH_3OH z MD).

3.3 Vliv konformační flexibility CH_3 skupin kafru na Ramanovo a ROA spektrum

Program Gaussian 09 umožňuje prozkoumat potenciální energii povrchu (potential energy surface – PES scan) molekuly kafru. Tento výpočet je založen na postupné změně vybraných vnitřních souřadnic molekuly a výpočtu její energie.[35]

Na Ramanových a ROA spektrech MD klastrů lze v oblasti malých frekvencí ($<400\,\mathrm{cm}^{-1}$) pozorovat různou citlivost na orientaci metylových (CH_3) skupin kafru. Vliv rotace CH_3 skupin na výsledné spektrum byl proto zkoumán s použitím CPCM modelu. Nejprve bylo rotováno každou CH_3 skupinou samostatně (1D analýza potenciální energie) v intervalu $0 – 120°$ s krokem $2{,}5°$. Vzniklé konformace byly optimalizovány na výpočetní úrovni B3PW91/6-31G**. Na téže úrovni byla vyhodnocena jejich Ramanova a ROA spektra. Pro potvrzení spočítaných energií konformerů byl výpočet zopakován ve větší bázi 6-311++G**.

Jednodimenzionální (1D) energetická analýza postihuje pouze konformace vybrané CH_3 skupiny nezávisle na zbylých dvou. Proto byla následně vykonána trojrozměrná (3D) analýza, jež umožňuje současně rotovat torzními úhly všech tří CH_3 skupin. Úhly bylo manipulováno opět v rozsahu $0 – 120°$ s krokem $10{,}0°$. Z celkem 2197 generovaných konformací, optimalizovaných opět na úrovni B3PW91/6-31G**, byl vybrán statistický soubor 284 konformerů s potenciální

energií povrchu pod $2\,\mathrm{kcal/mol}$ pro výpočet Ramanových a ROA spekter.

Do výsledků v kapitole 4.8 byly zahrnuty Boltzmannovsky vážené průměry počítaných konformerů 1D a 3D energetické analýzy.

4 Výsledky a diskuze

Tato kapitola je věnována interpretaci naměřených dat, porovnání jednotlivých simulačních přístupů Ramanových a ROA spekter a analýze interakce zkoumané látky (kafru) s polárními a nepolárními rozpouštědly (metanol, voda, cyklohexan a tetrachlormetan). Veškerá zde uvedená experimentální data byla získána pomocí ROA spektrometru podrobně popsaném v kapitole 2 dle postupu a za podmínek uvedených v části 2.2. V předchozí kapitole 3 je uvedena metodika výpočtu níže prezentovaných simulací.

V první části je proveden detailní rozbor Ramanových a ROA spekter kafru v jednotlivých rozpouštědlech. Jsou porovnávány různé *ab initio* simulační přístupy využívající implicitních modelů (PCM, CPCM) a explicitních modelů ve formě klastrů molekulární dynamiky (molekula kafru s 1. solvatační sférou molekul rozpouštědla) s výsledky měření obou enantiomerů kafru v rámci jednoho rozpouštědla i vzájemně mezi sebou. Pozornost je následně věnována vyhodnocení normalizované diferenční cirkulární intenzity a relativního faktoru vnitřního zesílení ostatních rozpouštědel vůči zesílení Ramanova signálu v metanolu. Je analyzován vliv velikosti báze na spektrum kafru v implicitním CPCM modelu a diskutován počet průměrovaných geometrií z molekulární dynamiky. Také je zkoumán vliv relativní permitivity jakožto klíčového parametru implicitních modelů v programu Gaussian. Do výsledků je rovněž zahrnuta analýza vlivu Grimmeho empirické disperzní korekce 3. řádu na spektra kafru. Závěrem je vyhrazen prostor detailní analýze vodíkových vazeb kafru v metanolu a jejich příspěvku do spektrální oblasti 1700 – $1900\,\mathrm{cm}^{-1}$, tzv. C=O valenční vibrace. Diskuze výsledků je završena studiem konformační volnosti methylových skupin molekuly kafru.

Je třeba zde poznamenat, že Ramanova a ROA spektra R-enantiomeru kafru v závislosti na implicitním modelu rozpouštědla na výpočetní úrovni B3LYP/6-311++G**/CPCM byla již v minulosti publikována jako součást studie CH valenční vibrace (2500 – $3400\,\mathrm{cm}^{-1}$),[36] kde bylo poukázáno na závislost intenzity Ramanových a ROA spekter se změnou polarity rozpouštědla. Intenzitní změna, ale i posun ve frekvencích, je nejvýraznější pro oblast již zmíněné C=O valenční vibrace. V níže prezentovaných výsledcích je tato problematika rozšířena.

4.1 Porovnání simulovaných a měřených Ramanových a ROA spekter kafru pro různá rozpouštědla

V následujících odstavcích a na obr. 6–13 je uvedeno srovnání Ramanových a ROA spekter výpočetních metod s experimentálními výsledky pro jednotlivá rozpouštědla. Každý obrázek je rozdělen do čtyř částí v intervalu od $80\,\mathrm{cm}^{-1}$ do $2000\,\mathrm{cm}^{-1}$ s ohledem na spektrální rozsah expe-

rimentu. První část (a) znázorňuje simulované spektrum explicitního modelu a vliv okrajových podmínek ve formě kombinace klastrů s CPCM modelem rozpouštědla. V části (b) je zkoumán rozdíl mezi implicitním modelem PCM, jenž utváří okolo molekuly kafru dielektrickou dutinu, a CPCM modelem s vlastnostmi rozpouštědla podobající se dokonalému vodiči. V části (c) je zopakován CPCM výpočet, ale v rozdílných verzích A02 a D01 programu Gaussian 09. Obě verze se používají již dlouhou dobu a účelem tohoto srovnání je, zjistit zda jsou konzistentní. V části (d) jsou uvedena naměřená spektra obou enantiomerů kafru v daném rozpouštědle. Pásy označené „*“ náleží nedokonale odečteným pásům rozpouštědla.

Spektrum je rozděleno do několika oblastí a spektrální pásy jsou popisovány od nízkých frekvencí po nejvyšší. Hlavním předmětem analýzy jsou spektra kafru v CH_3OH na obr. 6 a 7, jehož vlastnosti jsou dále diskutovány s ohledem na ostatním rozpouštědla. V posledních odstavcích této diskuze je zmíněno několik vět k rozdílným výpočetním přístupům. Diskuze Ramanových spekter je z velké části analogická.

V oblasti nižších vlnočtů 80 – $350\ \mathrm{cm}^{-1}$ se jednotlivé výpočetní přístupy nejvíce rozcházejí. Z uvedených simulací se jako nejpřesnější jeví průměrované spektrum MD v kombinaci s CPCM modelem, v jehož ROA spektru pro CH_3OH na obr. 7a jsou patrné pásy 113, 205 a $248\ \mathrm{cm}^{-1}$ v dobré shodě s 118, 222 a $247\ \mathrm{cm}^{-1}$ naměřeného ROA spektra. Rovněž dvojitý pás $287/302\ \mathrm{cm}^{-1}$ experimentu byl v obou případech MD výpočtů rozlišitelný na frekvenci $307\ \mathrm{cm}^{-1}$. Na rozdíl od implicitních modelů CPCM a PCM, kde je vykreslen pouze jeden výrazný pás $295\,\mathrm{cm}^{-1}$. V případě C_6H_{12} rozpouštědla na obr. 11 kopíruje spektrum vlastnosti kafru v CH_3OH s malými nuancemi. Uvedené spektrální pásy zde mají větší intenzitu ve výpočtech i experimentu. Ve srovnání s rozpouštědly CH_3OH a C_6H_{12} je u CCl_4 patrná dominance ROA pásu $194\,\mathrm{cm}^{-1}$ nad $222\,\mathrm{cm}^{-1}$ (obr. 13a), což je podloženo experimentem (obr. 13d) v 222 a $247\,\mathrm{cm}^{-1}$. Intenzita Ramanova pásu $118\,\mathrm{cm}^{-1}$ je u většiny simulačních přístupů nadhodnocena a neodpovídá realitě.

V interval 350 – $950\ \mathrm{cm}^{-1}$ CH_3OH ROA je tvar spektra daný experimentem dobře simulován všemi uvedenými implicitními a explicitními modely. Záporný pás $523\,\mathrm{cm}^{-1}$ je u všech výpočetních přístupů relativně slabý oproti experimentu. Dvojice experimentálních pásů 556 a $573\,\mathrm{cm}^{-1}$ nebyla v žádné simulaci CH_3OH věrohodně vykreslena. U všech výpočetních metod je patrný pouze jeden kladný pás o hodnotě $577\,\mathrm{cm}^{-1}$. V případě nepolárních rozpouštědel C_6H_{12} a CCl_4 intenzita druhého pásu $573\,\mathrm{cm}^{-1}$ roste do záporných hodnot až na hodnotu srovnatelnou s pásem $611\,\mathrm{cm}^{-1}$ (experiment). V simulovaném ROA spektru explicitních modelů nepolárních rozpouštědel (obr. 11, 13) se tento fakt projevil dvojicí pásů 559 a $574\,\mathrm{cm}^{-1}$. Oblast okolo výrazného pásu $710\,\mathrm{cm}^{-1}$ je nejlépe simulována explicitním modelem rozpouštědla. Výskyt malého pásu mezi hodnotami 914 a $935\,\mathrm{cm}^{-1}$ nebyl v experimentech rozlišen, až na ROA H_2O (viz obr. 9d). Struktura Ramanova pásu $860\,\mathrm{cm}^{-1}$ nebyla ani v jednom z analyzovaných prostředí rozlišena.

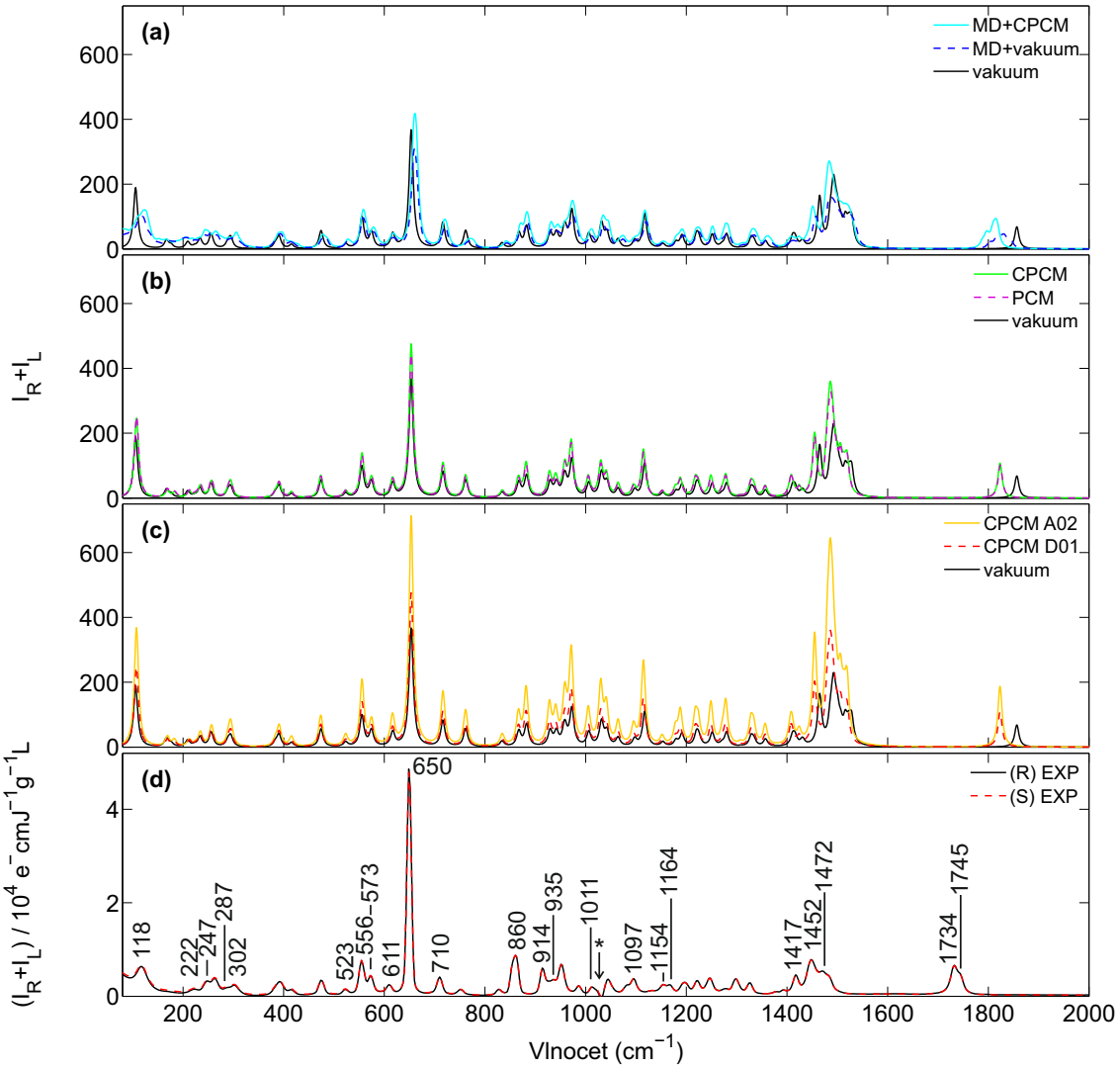
ROA spektra kafru v CH_3OH si mezi pásy 1011 a $1082\,\mathrm{cm}^{-1}$ neodpovídají. Následující sekvence naměřených pásů 1097, 1128, 1154, 1164 a $1194\,\mathrm{cm}^{-1}$ jsou dobře reprodukovány simulacemi všech zohledněných modelů na frekvencích 1117, 1154, 1181 1191 a $1219\,\mathrm{cm}^{-1}$, přičemž explicitní model MD s CPCM se k realitě blíží nejvíce. Výpočty a experiment se zde rozcházejí v intenzitách, kdy z teorie plyne $I_{ROA}(1117) > I_{ROA}(1181)$, naproti tomu je pozorováno $I_{ROA}(1097) < I_{ROA}(1154)$ u korespondujících pásů v experimentu. Výjimkou je kafr v H_2O, kde je tato závislost opačná.

Za věrohodně reprodukované pásy lze považovat dvojici 1417 a $1452\,\mathrm{cm}^{-1}$ (obr. 7d). Jejich simulované ekvivalenty se nachází v 1450 a $1485\,\mathrm{cm}^{-1}$ (obr. 7a). Implicitní modely a MD ve vakuu jsou jemně rozposunuty směrem k vyšším frekvencím vůči MD s CPCM. Referenční dvojice pásů pro samotné molekuly kafru bez modelu rozpouštědla se nachází až na frekvencích 1465 a $1492\,\mathrm{cm}^{-1}$. Následující málo intenzitní pásy 1472 a $1486\,\mathrm{cm}^{-1}$ ROA jsou úspěšně reprodukovány pouze explicitními modely u všech rozpouštědel.

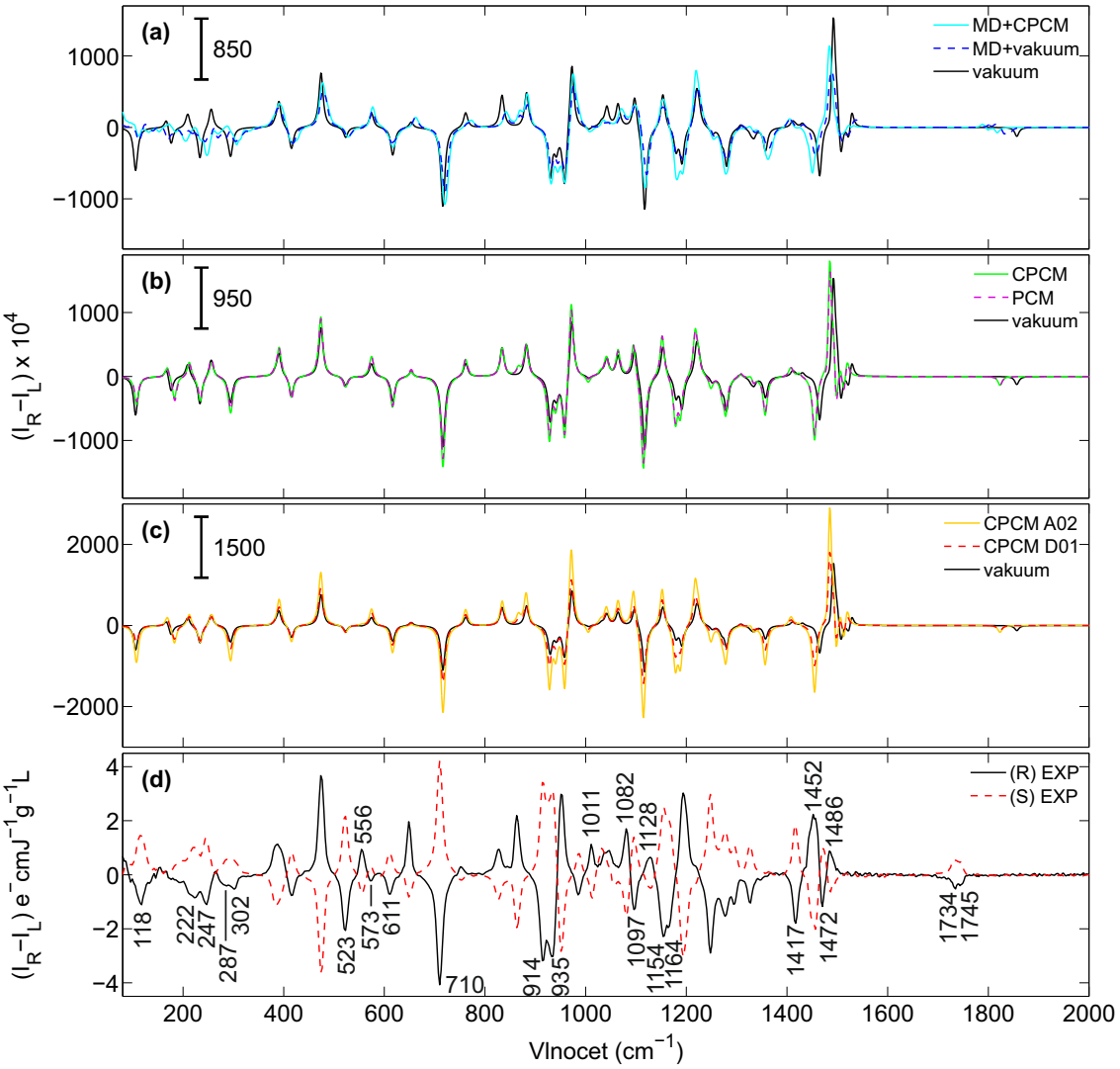
V oblasti 1700 – $1900\,\mathrm{cm}^{-1}$ C=O valenční vibrace silně závisí spektrální profil na interakci kafru s rozpouštědlem. Explicitní model kafru z MD s CPCM na hranicích 15 průměrovaných klastrů simuluje reálný tvar spektra nejvěrohodněji, nikoliv však dostatečně přesně. Dvojice ROA pásů 1735 a $1745\,\mathrm{cm}^{-1}$ je v případě CH_3OH úspěšně simulována na frekvencích 1800 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ (obr. 7). Implicitní modely PCM a CPCM vykreslují pouze jednoduchý pás $1824\,\mathrm{cm}^{-1}$, a nejsou proto vhodným modelem pro popis C=O valenční vibrace. Analogicky lze popsat tento spektrální pás v H_2O (obr. 9a). Nepolární rozpouštědla CCl_4 a C_6H_{12} toto zdvojení C=O pásu nevykazují. Lze tedy usuzovat na vliv mezimolekulárních vodíkových vazeb. Detailnější analýze C=O valenční vibrace je věnována kapitola 4.7.

Frekvenční rozdíl mezi jednotlivými pásy teoretických modelů a experimentu se postupně prohlubuje a pro C=O region dosahuje až $\sim 70\ \mathrm{cm}^{-1}$. Tento nežádoucí posun může vycházet z harmonické aproximace a použitého funkcionálu DFT metody.

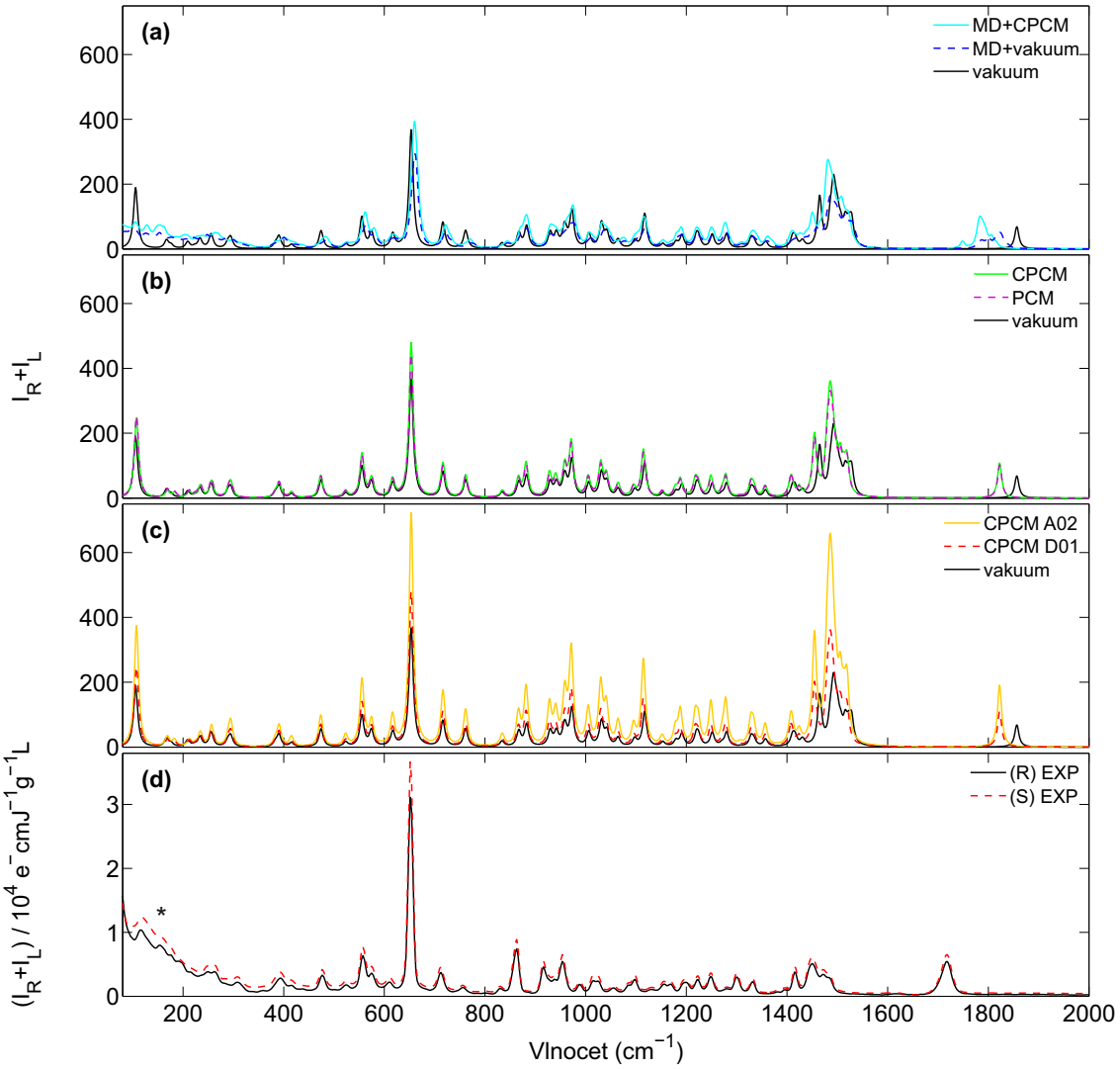
V rámci jednotlivých výpočetních metod bylo zjištěno, že rozdíl mezi CPCM a PCM implicitním modelem je zanedbatelný. Naproti tomu výpočty CPCM modelu v rozdílných verzích programu Gaussian A02 a D01 se markantně liší a to u silně polárních rozpouštědel CH_3OH (obr. 6 a 7) a H_2O (obr. 8 a 9). V C_6H_{12} (obr. 10 a 11) a CCl_4 (obr. 12 a 13) je rozdíl zanedbatelný. Explicitní modely ve formě 15 průměrovaných klastrů zprostředkovaných molekulární dynamikou (MD) byly testovány v prostředí CPCM a ve vakuu. Byl tak zkoumán vliv okrajových podmínek na explicitní model. V oblasti vyšších vlnočtů, zejména u C=O valenční vibrace, bylo dosaženo v případě MD s CPCM viditelně lepších výsledků než u pouhé MD.



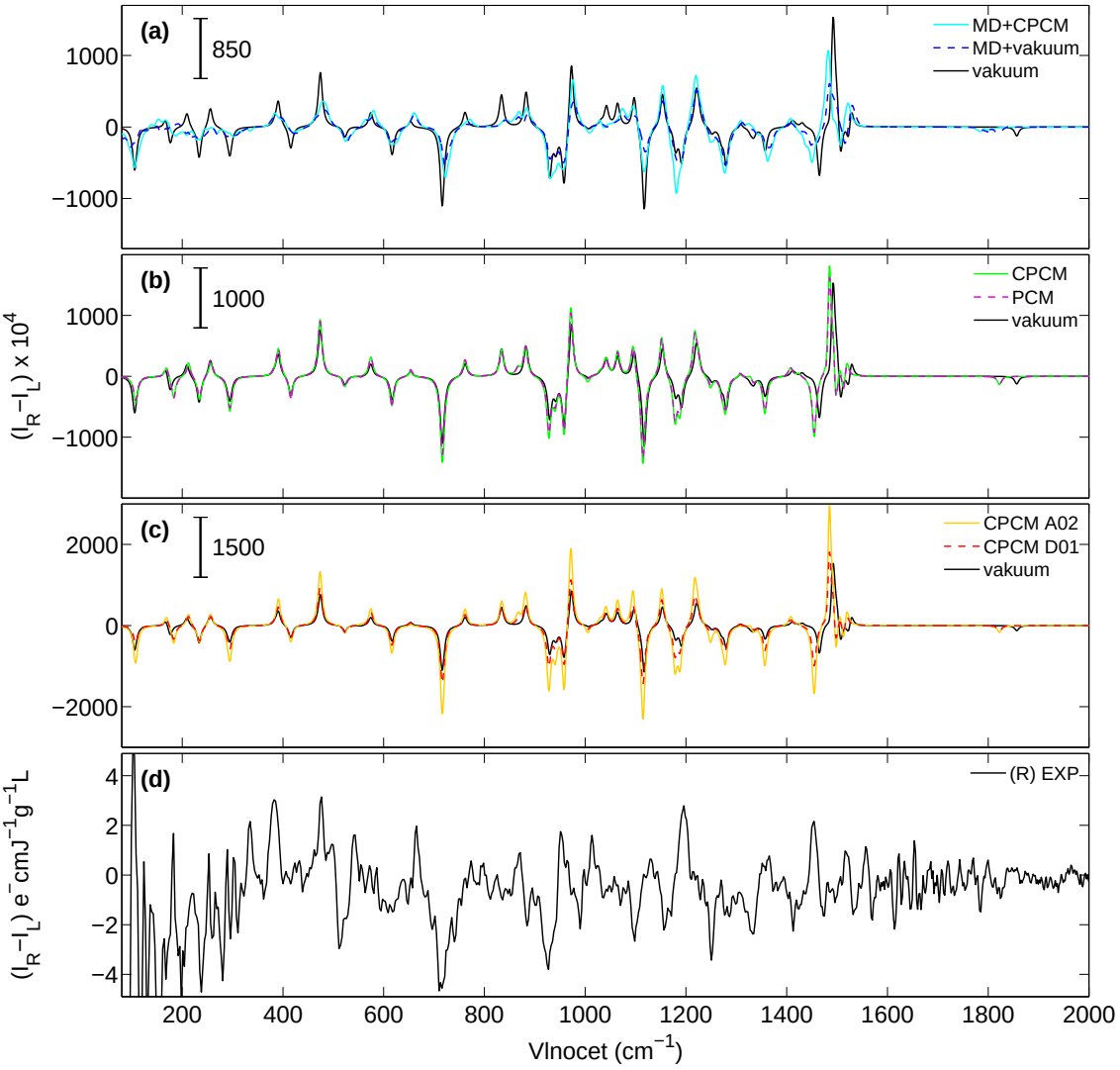
Obr. 6: Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v CH_3OH o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). **d)** Experimentální Ramanovo spektrum kafru v CH_3OH pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. Z důvodu konzistence bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu jako u ROA spekter.



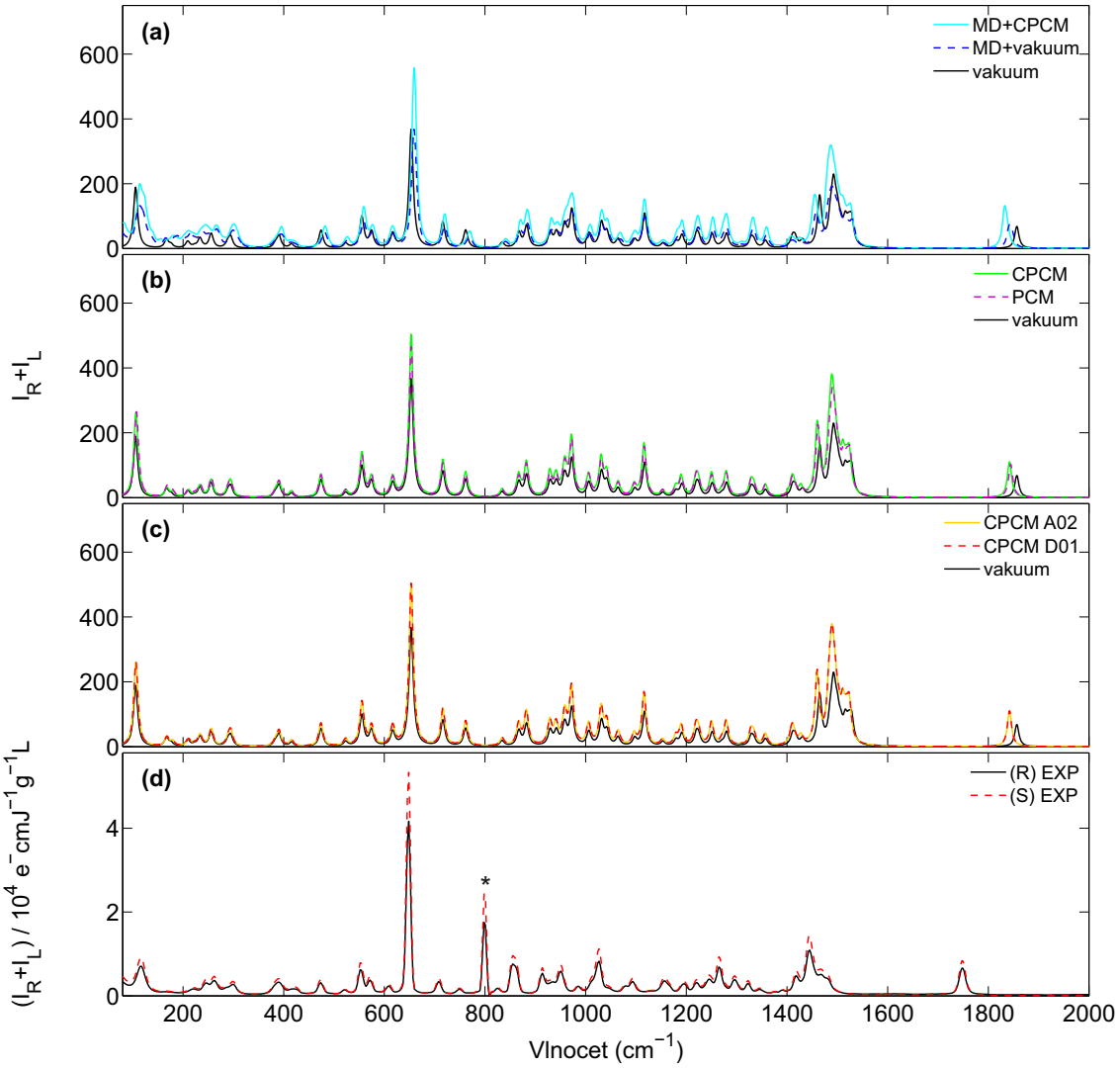
Obr. 7: Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v CH_3OH o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). Úsečka nahoře vlevo zvýrazňuje intenzitní škálu mezi použitými metodami. **d)** Experimentální ROA spektrum kafru v CH_3OH pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. K potlačení šumu bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu.



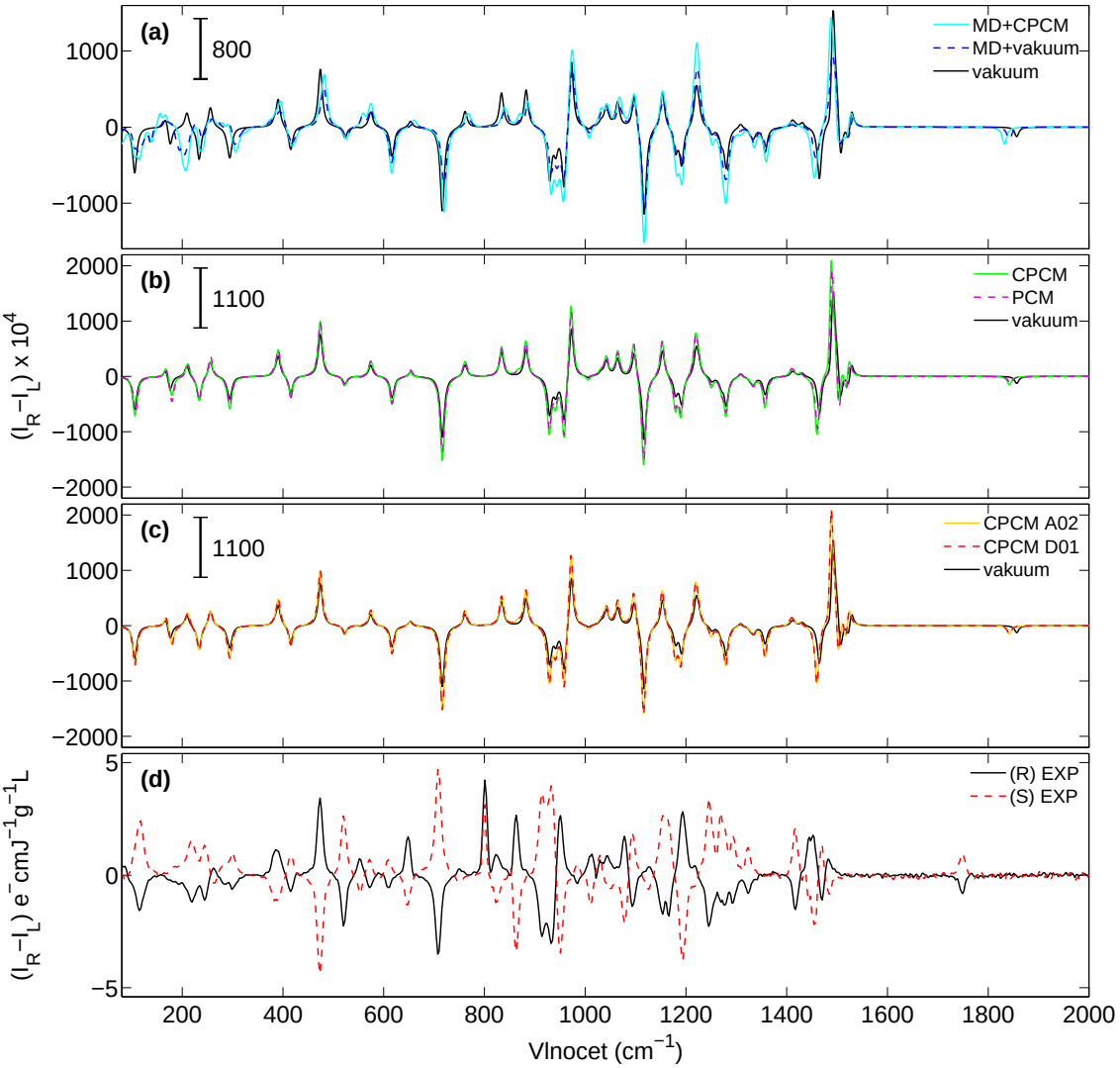
Obr. 8: Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v H_2O o koncentraci $1\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). **d)** Experimentální Ramanovo spektrum kafru v H_2O pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. Z důvodu konzistence bylo na bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu jako u ROA spekter.



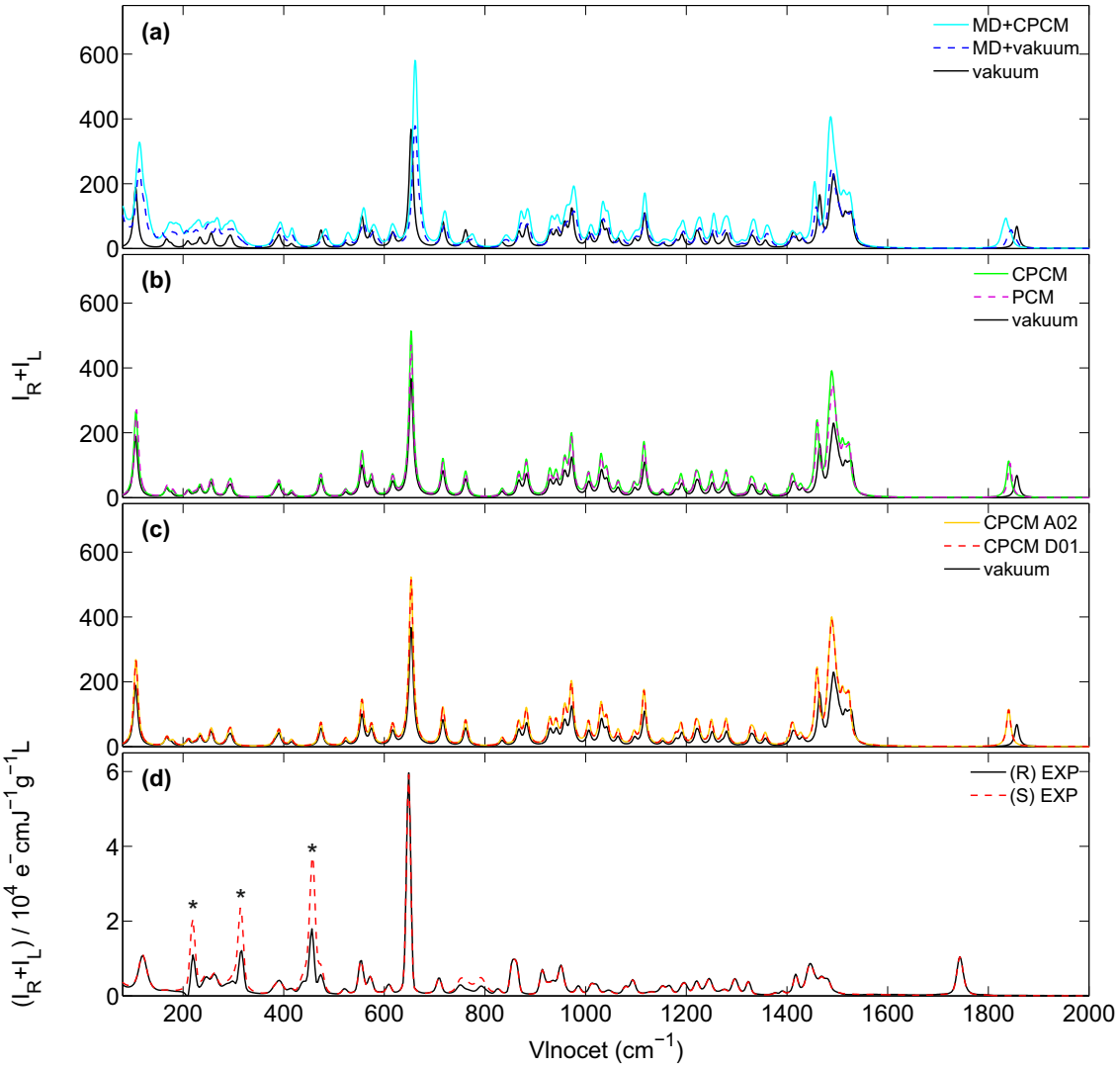
Obr. 9: Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v H_2O o koncentraci $1\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). Úsečka nahoře vlevo zvýrazňuje intenzitní škálu mezi použitými metodami. **d)** Experimentální ROA spektrum kafru v H_2O, získané váženým průměrem mezi R- a S- enantiomery pro lepší poměr signálu a šumu. K potlačení šumu bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu.



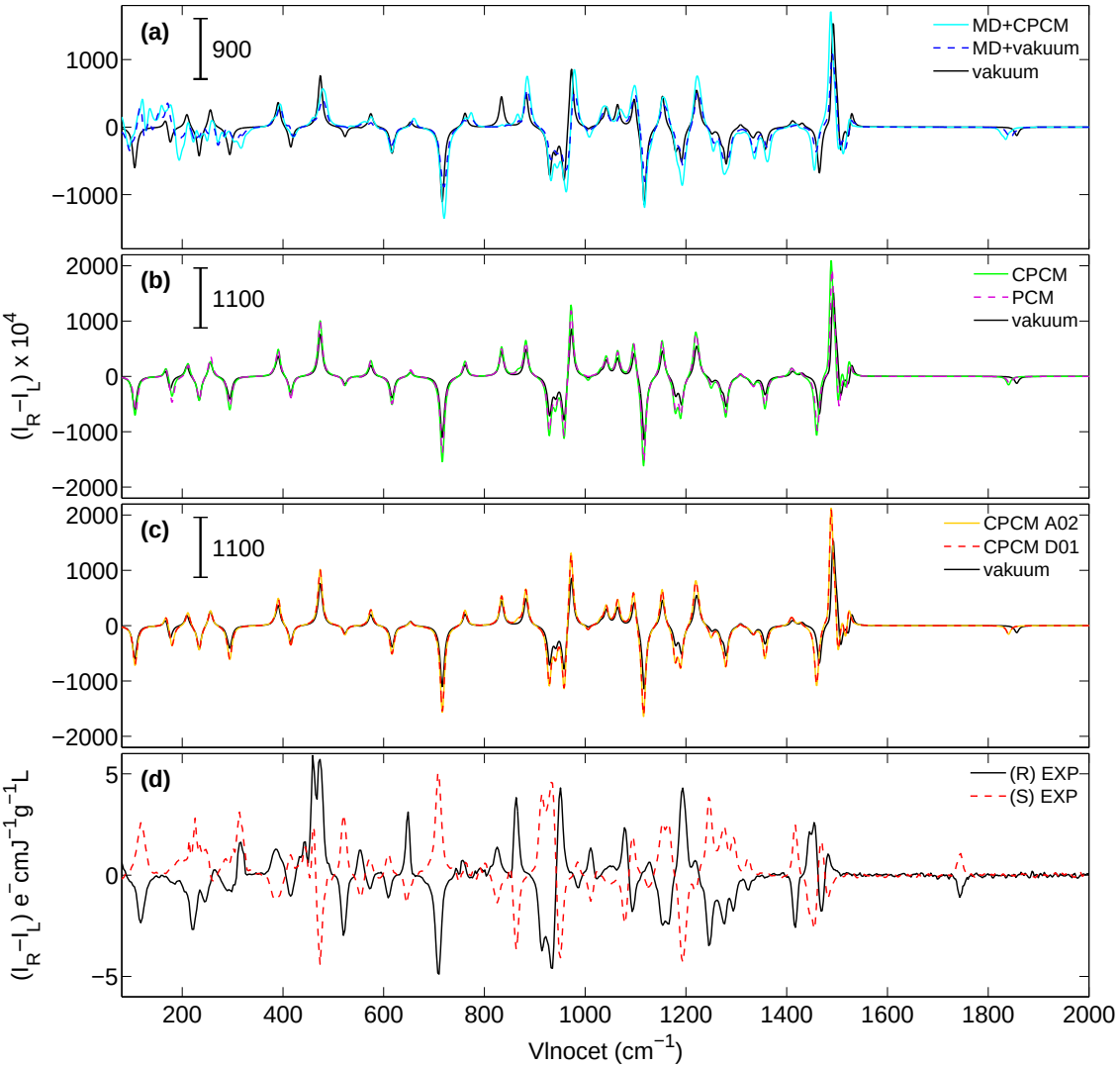
Obr. 10: Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v C_6H_{12} o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). **d)** Experimentální Ramanovo spektrum kafru v C_6H_{12} pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. Z důvodu konzistence bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu jako u ROA spekter.



Obr. 11: Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v C_6H_{12} o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). Úsečka nahoře vlevo zvýrazňuje intenzitní škálu mezi použitými metodami. **d)** Experimentální ROA spektrum kafru v C_6H_{12} pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. K potlačení šumu bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu.



Obr. 12: Experimentální a simulovaná Ramanova spektra kafru v CCl_4 o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). **d)** Experimentální Ramanovo spektrum kafru v CCl_4 pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. Z důvodu konzistence bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu jako u ROA spekter.



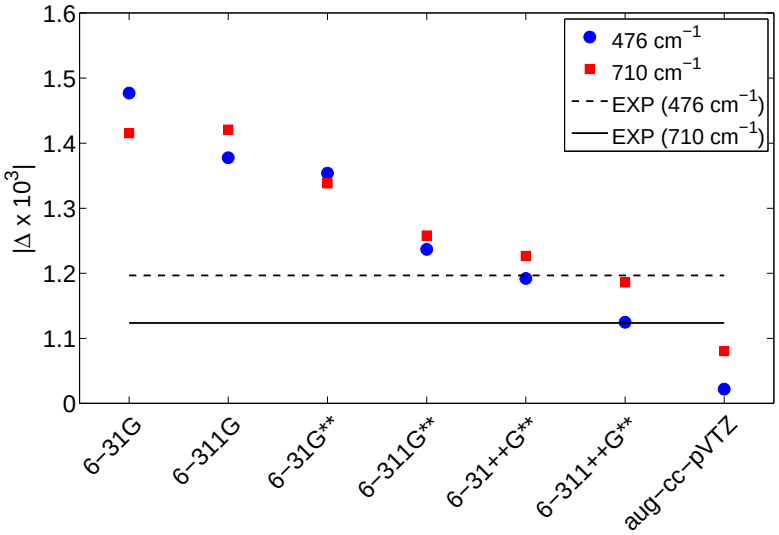
Obr. 13: Experimentální a simulovaná ROA spektra kafru v CCl_4 o koncentraci $200\,\mathrm{mg/ml}$. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v implicitním modelu CPCM (modrá) a ve vakuu (azurová). **b)** Spektrum implicitních modelů PCM (purpurová) a CPCM (zelená). **c)** Spektrum stejných implicitních modelů CPCM v programu Gaussian 09 verze A02 (žlutá) a D01 (červená). Ve spektrech (a,b,c) označuje černá křivka referenční spektrum kafru ve vakuu (bez modelu rozpouštědla). Úsečka nahoře vlevo zvýrazňuje intenzitní škálu mezi použitými metodami. **d)** Experimentální ROA spektrum kafru v CCl_4 pro R-(černá) a S-(červená) enantiomer. K potlačení šumu bylo na experimentální data použito Savitzky – Golayovo pětibodové vyhlazení 3. řádu.

Normalizovaná diferenční cirkulární intenzita

Poměr ROA a Ramanova signálu (22) udává důležitou bezrozměrnou veličinu při porovnávání simulovaných a experimentálních spekter. V tabulce 5 je vyhodnocena normalizovaná diferenční cirkulární intenzita pro vlnočty 476 a $710\,\mathrm{cm}^{-1}$, kde nedochází k překryvům s jinými spektrálními pásy a lze u nich dobře odečíst pás rozpouštědla. Výjimkou je experimentální hodnota normalizované diferenční cirkulární intenzity u obou enantiomerů kafru v CCl_4, kde se pás kafru překrývá s pásem CCl_4.

Z tabulky 5 poměr ROA/Raman signálu nejlépe simuluje implicitní model CPCM v případě polárních rozpouštědel a explicitní model MD s CPCM v případě nepolárních rozpouštědel. Řádově jsou všechny simulované hodnoty ve shodě s experimentem.

Normalizované diferenční cirkulární intenzity porovnávané výše byly všechny počítány na stejné výpočetní úrovni B3PW91/6-31G**. Se změnou velikosti báze implicitního modelu kafru v metanolu se poměr intenzity ROA a Ramanova záření blíží k experimentálním hodnotám, jak je doloženo tabulkou 6 a znázorněno na obr. 14.



Obr. 14: Graf závislosti normalizované diferenční cirkulární intenzity CPCM modelu kafru v CH_3OH na velikosti báze pro frekvence 476 a $710\,\mathrm{cm}^{-1}$. Přímky zde reprezentují experimentálně stanovené hodnoty R-enantiomeru kafru v CH_3OH.

Tab. 5: Normalizovaná diferenční cirkulární intenzita na frekvencích 476 a $710\,\mathrm{cm}^{-1}$. Simulace využívající implicitních modelů CPCM, explicitních klastrů rozpouštědla z MD a MD v kombinaci s CPCM jsou srovnávána s experimentálními hodnotami R- a S-enantiomeru kafru v uvedených rozpouštědlech. Δ ((S) EXP) ve vodě nebyl stanoven, z důvodu využití dat na zlepšení ROA signálu druhého enantiomeru.

Rozpouštědlo	$\Delta \times 10^3$ (MD+CPCM)		$\Delta \times 10^3$ (MD+vakuum)		$\Delta \times 10^3$ (CPCM)		$\Delta \times 10^3$ ((R) EXP)		$\Delta \times 10^3$ ((S) EXP)	
	$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$	$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$	$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$	$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$	$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$
CH_3OH	1,63	−1,40	1,57	−1,53	1,35	−1,34	1,20	−1,12	−1,19	1,21
H_2O	1,20	−1,20	1,21	−1,22	1,35	−1,34	1,06	−1,36	–	–
C_6H_{12}	1,13	−1,21	1,13	−1,25	1,39	−1,34	1,31	−1,25	−1,26	1,29
CCl_4	1,11	−1,40	1,20	−1,53	1,38	−1,34	–	−1,21	–	1,24

Tab. 6: Vliv počtu bázových funkcí na vyhodnocení normalizované diferenční cirkulární intenzity CPCM modelu kafru v CH_3OH na frekvencích 476 a $710\,\mathrm{cm}^{-1}$. Zvolenou výpočetní metodou byl hybridní DFT funkcionál B3PW91.

Báze	Počet bázových funkcí	$\Delta \times 10^3$	
		$476\,\mathrm{cm}^{-1}$	$710\,\mathrm{cm}^{-1}$
6-31G	131	1,48	−1,42
6-311G	191	1,38	−1,42
6-31G**	245	1,35	−1,34
6-311G**	305	1,24	−1,26
6-31++G**	305	1,19	−1,23
6-311++G**	365	1,12	−1,19
aug-cc-pVTZ	1005	1,02	−1,08

4.2 Vyhodnocení faktoru vnitřního zesílení v Ramanových a ROA spektrech kafru

Jedním z projevů interakce kafru s rozpouštědly je změna intenzity spektrálních pásů vlivem zesílení pole excitačního záření dielektrikem. Přímé srovnání Ramanovy a ROA intenzitní odezvy kafru v různých rozpouštědlech umožňuje faktor vnitřního zesílení. Jeho tvar (26) byl definován obecně pro vzorky sférického tvaru, lze jej tedy porovnat se simulovanými spektry, viz tabulka 7. Tvar faktoru vnitřního zesílení odpovídající experimentu je možné získat podělením kvadrátem indexu lomu měřeného rozpouštědla (vliv změny prostorového úhlu při lomu na rovinném rozhraní).

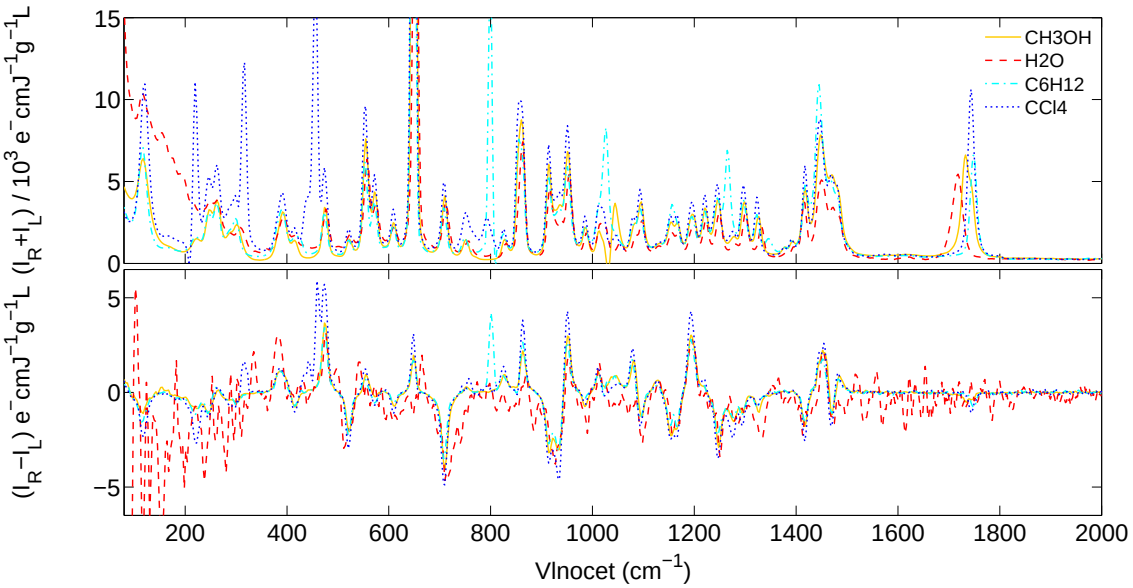
V tabulce 7 je faktor vnitřního zesílení porovnáván se škálovacím koeficientem Ramanových a ROA spekter simulací a experimentu. Za účelem vzájemného porovnání faktorů vnitřního zesílení a škálovacích koeficientů rozpouštědel bylo nutné zvolit referenční rozpouštědlo. Všechny hodnoty v tabulce 7 jsou proto vztaženy vůči hodnotám kafru v metanolu. Pro stanovení relativních hodnot škálovacích koeficientů byla zvolena oblast od 800 do $1200\,\mathrm{cm}^{-1}$, kde je spektrum kafru nejméně náchylné na nepřesnosti. Potvrzuje se, že faktor ve tvaru L_n/n^2 odpovídá experimentálním hodnotám relativního zesílení Ramanova a ROA signálu. Jeho tvaru L_n se nejvíce blíží explicitní model MD v kombinaci s CPCM, což je pochopitelné, protože simulace změnu prostorového úhlu při výstupu záření z kyvety nezohledňuje.

Hodnoty faktoru vnitřního zesílení z tabulky 7 byly graficky interpretovány překryvem experimentálních a vypočítaných spekter na obr. 15, 16 a 17. Intenzita ROA pásů kafru v nepolárních

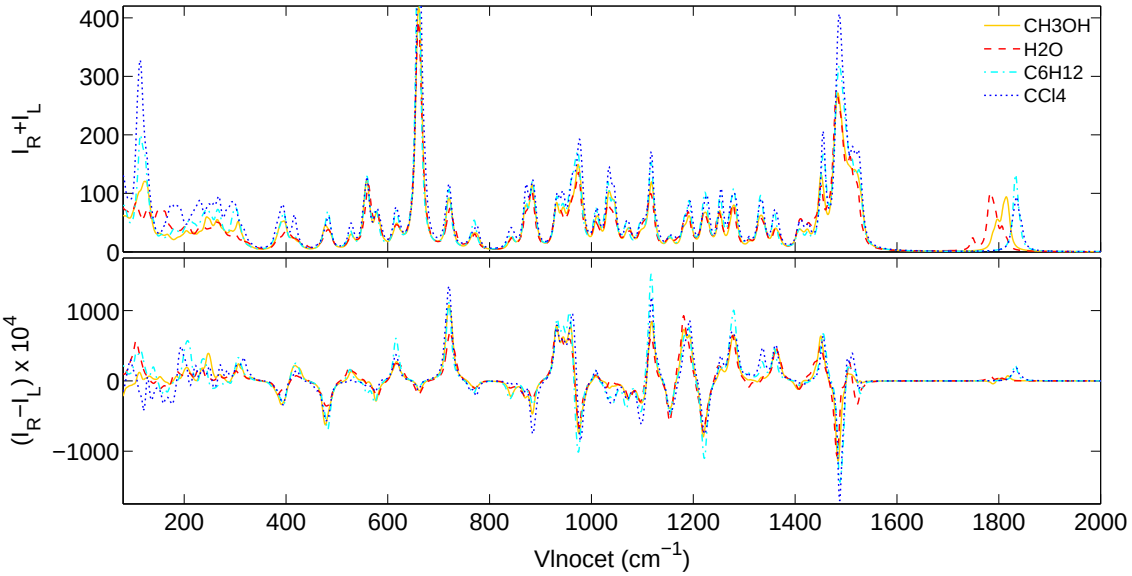
rozpouštědlech (CCl_4, C_6H_{12}) je větší než u CH_3OH. Jak lze vidět z grafu na obr. 17, implicitní model faktor vnitřního zesílení nepostihuje.

Tab. 7: Faktor vnitřního zesílení a škálovací koeficienty analyzovaných rozpouštědel. Hodnoty jsou uvedeny relativně vzhledem k metanolu z důvodu porovnání s experimentem. Faktor L_n z definice odpovídá simulovaným spektrům RAM (ROA), po korekci na čtvercovou kyvetu L_n/n^2 odpovídá experimentu. Všechny relativní škálovací koeficienty byly vyhodnoceny porovnáním spektrální oblasti 800 – $1200\,\mathrm{cm}^{-1}$.

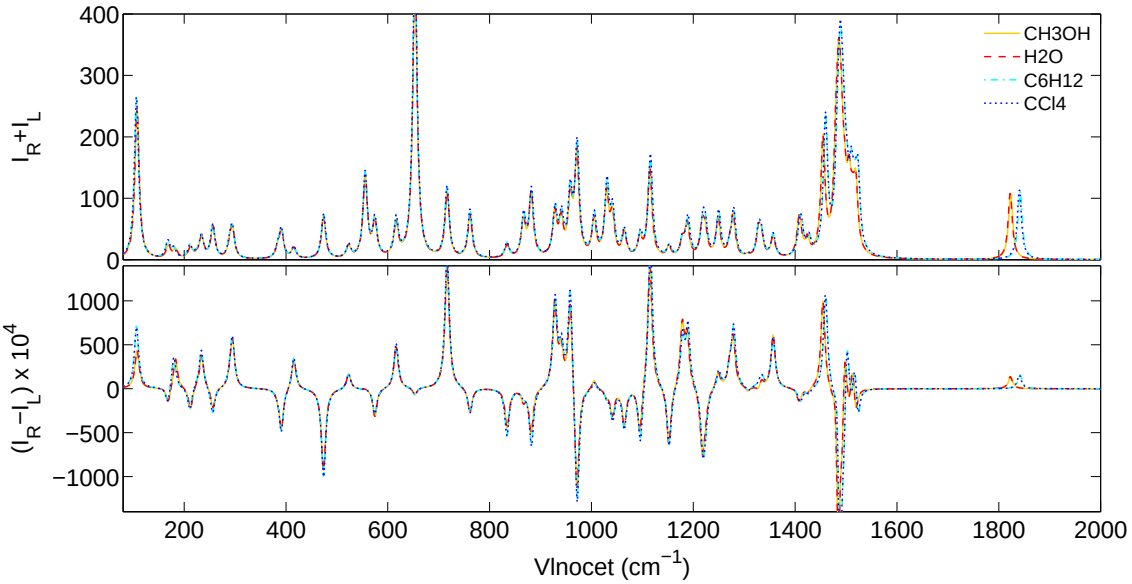
Solvent	L_n	L_n/n^2	RAM (MD, D01/CPCM)	ROA (MD, D01/CPCM)	RAM (MD, D01/vac)	ROA (MD, D01/vac)	RAM (imp., D01/CPCM)	ROA (imp., D01/CPCM)	RAM (experiment)	ROA (experiment)
CH_3OH	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
H_2O	1,01	1,01	0,92	0,93	0,80	0,84	1,00	1,00	0,82	1,08
C_6H_{12}	1,32	1,15	1,16	1,18	1,13	1,13	1,12	1,12	1,02	0,96
CCl_4	1,46	1,21	1,37	1,23	1,23	1,10	1,14	1,14	1,28	1,38



Obr. 15: Překryv experimentálních Ramanových a ROA spekter kafru v rozpouštědlech různé polarity pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení, viz tabulka 7.



Obr. 16: Překryv Ramanových a ROA spekter kafru v rozpouštědlech různé polarity simulovaných metodou (MD,B3PW91/6-31G**/CPCM) pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení, viz tabulka 7.



Obr. 17: Překryv Ramanových a ROA spekter kafru v rozpouštědlech různé polarity simulovaných metodou (B3PW91/6-31G**/CPCM) pro ilustraci faktoru vnitřního zesílení, viz tabulka 7.

4.3 Zkoumání velikosti báze při použití implicitního modelu rozpouštědla

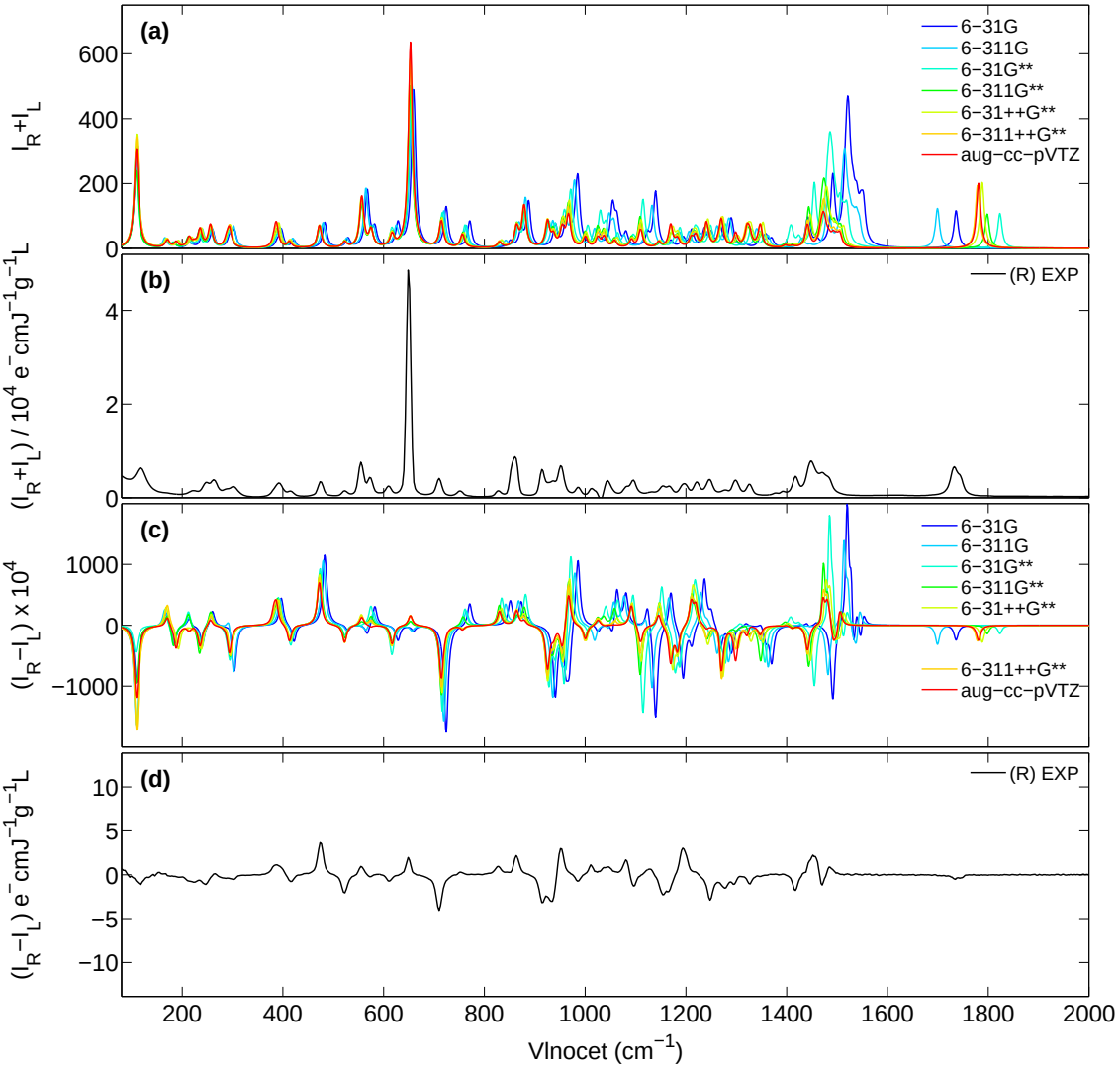
Při výpočtu je možné si vybrat z celé řady optimalizovaných souborů bázových funkcí, přičemž zpravidla s volbou větší báze roste přesnost simulovaných spekter, ale také jejich výpočetní náročnost. Doporučuje se proto pro danou výpočetní metodu zvětšovat počet bázových funkcí až do okamžiku, kdy se výsledky razantně nemění.

V tomto případě byl zkoumán vliv velikosti báze na hybridní DFT funkcionál B3PW91. Mezi testovanými bázemi byly: 6-31G, 6-311G, 6-311G**, 6-31++G**, 6-311++G**, aug-cc-pVTZ. Báze s označením (**) obsahují navíc polarizační funkce a označení (++) zastupuje přidané difuzní funkce atomových orbitalů. Jak lze vidět z obr. 18 zvětšování báze má relativně velký vliv na přesnost simulace spekter, ale není dostatečné pro popis všech spektrálních rysů. Pro báze nad 6-311++G** je spektrální změna minimální a výpočetní náročnost diskutovaných bází rapidně narůstá, viz tabulka 8.

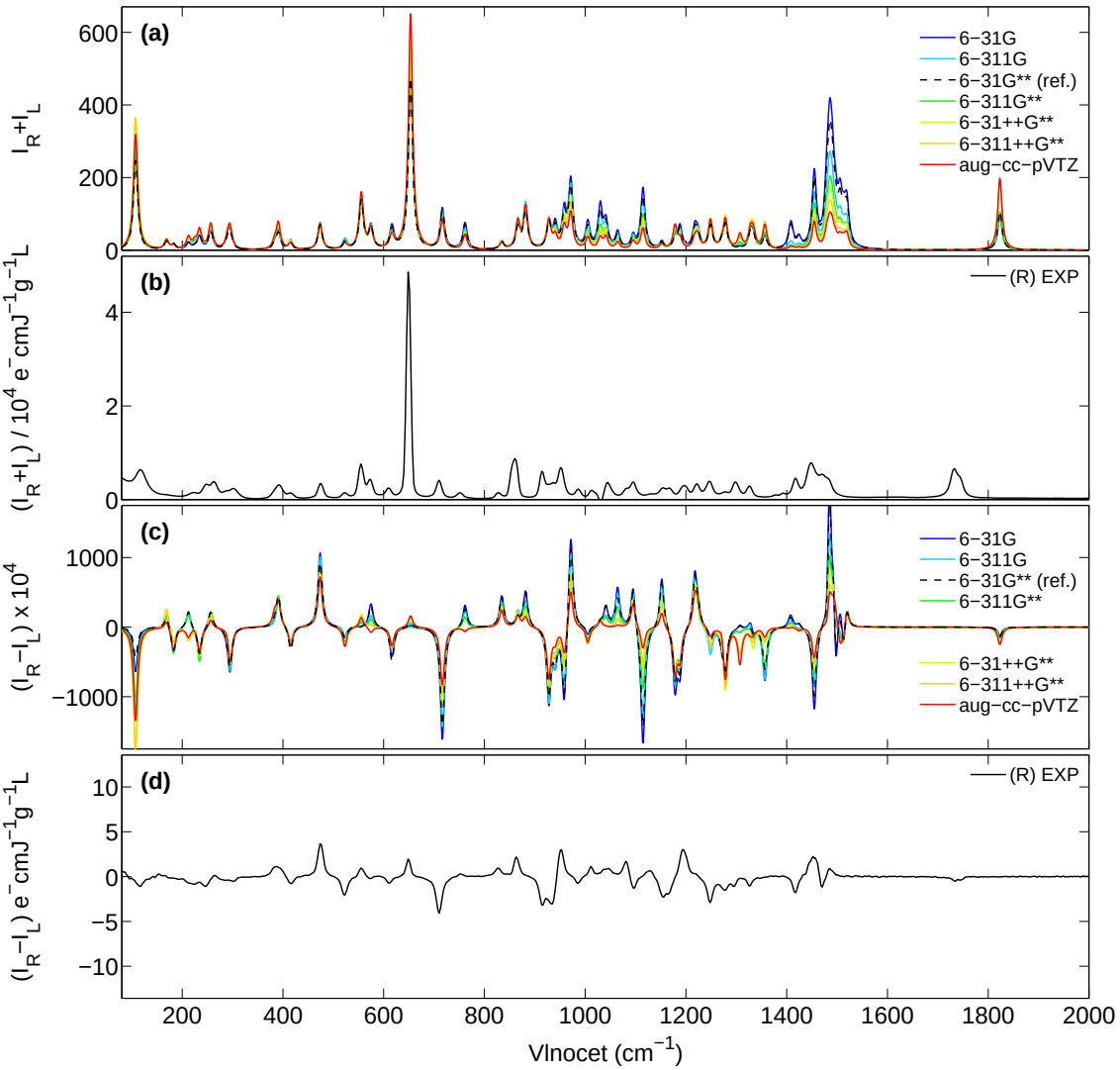
Difuzní funkce mohou mít v některých případech nežádoucí vliv na výpočet vibračních frekvencí. V oblasti 1700 – $1900\,\mathrm{cm}^{-1}$ lze na obr. 18 pozorovat posun pásů v závislosti na bázi. Na druhou stranu se potvrzuje, že velkou část ROA spektra 800 – $1600\,\mathrm{cm}^{-1}$ modeluje výrazně lépe větší báze. Toto srovnání bází je názorněji zobrazeno na obr. 19, kde silové pole bylo počítáno na úrovni báze referenční (6-31G**) a tenzory polarizovatelnosti v bázích uvedených v tabulce 8.

Tab. 8: Odhad výpočetních časů (frekvence a ROA) potřebných pro různé báze se stejným funkcionálem B3PW91 a $\sim 4\,\mathrm{GHz}$ CPU. Model: molekula kafru v CPCM prostředí. Uvedené časy byly středovány z výpočetních časů pro jednotlivá rozpouštědla.

báze	čas [h]
6-31G	0,3
6-311G	0,7
6-31G**	1,6
6-311G**	2,5
6-31++G**	3,8
6-311++G**	8,0
aug-cc-pVTZ	330,0



Obr. 18: Vliv velikostí báze na přesnost Ramanových **(a)** a ROA **(c)** spekter kafru v CPCM modelu CH_3OH a při stejném funkcionálu B3PW91. Experimentální Ramanovo **(b)** a ROA **(d)** spektrum R-enantiomeru kafru v CH_3OH. Experimentální ROA spektrum je zmenšené tak, aby poměr os Ramanových a ROA intenzit se zachovával.



Obr. 19: Porovnání vlivů bázových funkcí na výpočet intenzit Ramanových **(a)** a ROA **(c)** spekter kafru v CPCM modelu CH_3OH a na výpočetní úrovni B3PW91. Černá přerušovaná křivka zastupuje bázi 6-31G** s jejími vlastními tenzory polarizovatelnosti a slouží jako referenční. Experimentální Ramanovo **(b)** a ROA **(d)** spektrum R-enantiomeru kafru v CH_3OH. Experimentální ROA spektrum je zmenšené tak, aby poměr os Ramanových a ROA intenzit se zachovával.

V tabulce 9 je zaznamenán intenzitní poměr mezi spektrálními pásy $650\,\mathrm{cm}^{-1}$ a $1520\,\mathrm{cm}^{-1}$ Ramanova spektra pro dvě různá rozpouštědla, CH_3OH a CCl_4. Z porovnání těchto hodnot pro dvě rozdílně velké báze plyne, že zvyšující se báze lépe popisuje relativní poměr uvedených pásů vzhledem k experimentu.

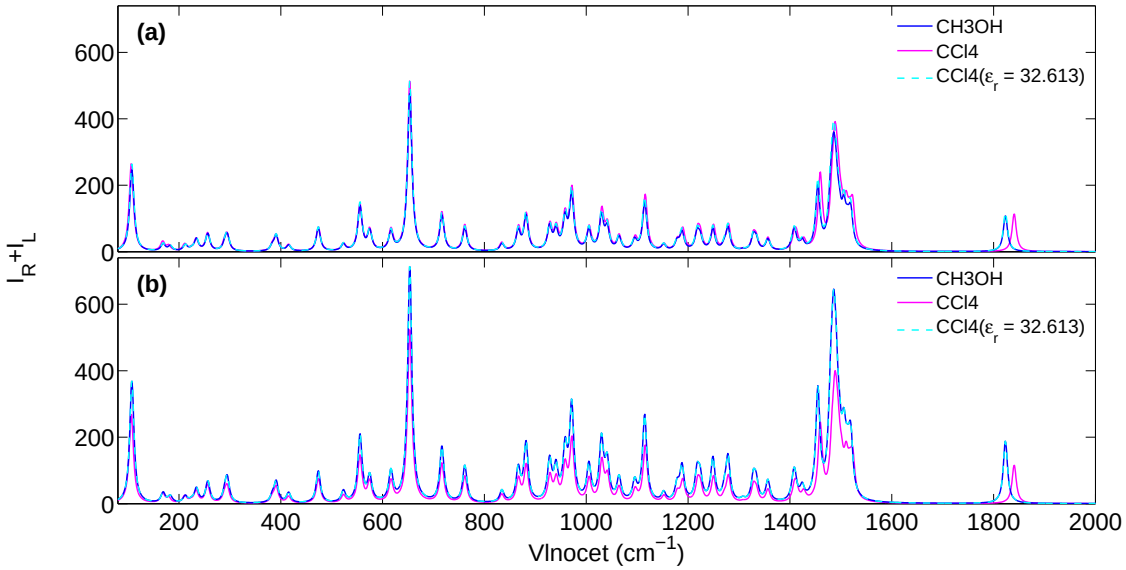
Tab. 9: Intenzitní poměr Ramanových pásů $650\,\mathrm{cm}^{-1}$ a $1520\,\mathrm{cm}^{-1}$ pro CPCM modely CH_3OH a CCl_4 ve dvou bázích a pro naměřená spektra kafru v těchto rozpouštědlech.

Rozpouštědlo	6-31G	6-311++G**	Experiment
CH_3OH	1,04	3,84	6,20
CCl_4	1,03	3,54	6,79

4.4 Závislosti implicitního modelu na nejdůležitějším parametru – relativní permitivitě

Relativní permitivita (dielektrická konstanta) ε_r je nejdůležitější parametr implicitních modelů rozpouštědla. Autoři programu Gaussian uvádějí, že relativní permitivita není jediným parametrem definujícím implicitní prostředí a jeho změnou nelze správně popsat jiný model rozpouštědla. Cílem bylo proto ověřit, zdali je to skutečně pravda a jakou váhu mají jiné parametry v definici rozpouštědla.

Z porovnání spekter CPCM modelů v kapitole 4.1 je patrný rozdíl v přesnosti *ab initio* výpočtů mezi verzí A02 a D01 programu Gaussian 09. Na obr. 20 byl porovnáván vliv relativní permitivity na CPCM model rozpouštědla v obou zmíněných verzích programu Gaussian. Testovaným CPCM modelem byl tetrachlormetan s manuálně pozměněnou hodnotou permitivity na hodnotu $\epsilon_r = 32{,}613$ odpovídající metanolu. Po změně relativní permitivity je tento model v případě starší verze A02 ve shodě s Ramanovým spektrem implicitního metanolu, zatímco u verze D01 překryv není dokonalý a lze zde usuzovat na vliv dalších parametrů prostředí.

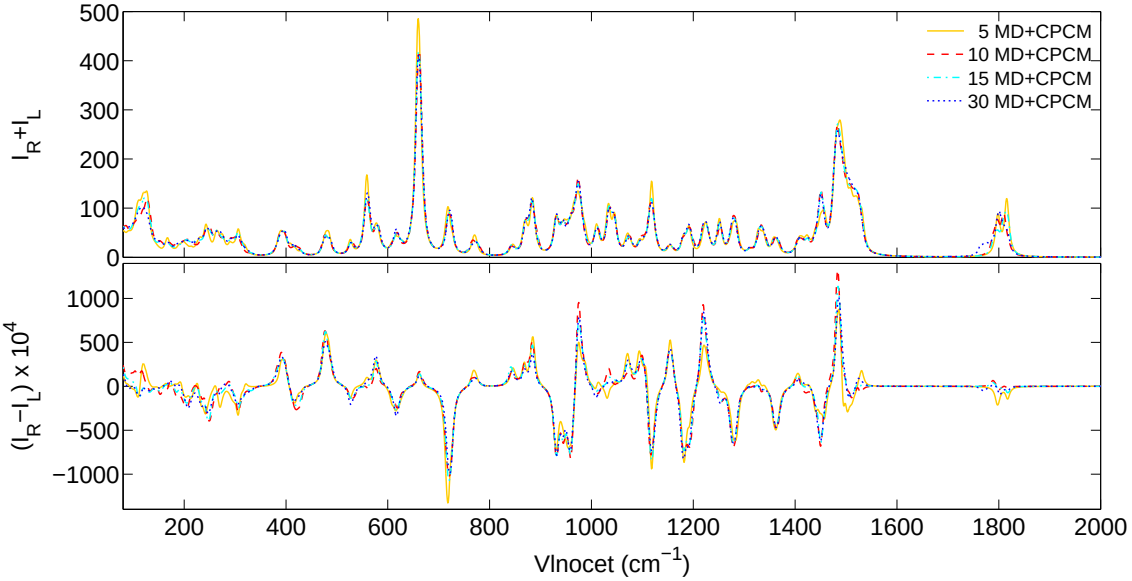


Obr. 20: Vliv relativní permitivity na implicitní model CPCM v programu Gaussian 09 verze D01 a A02. Ramanovo spektrum kafru v CPCM modelech CH_3OH, CCl_4 a kombinace CCl_4 s pozměněnou relativní permitivitou na hodnotu $\epsilon_r = 32{,}613$. Graf **(a)** znázorňuje výpočty ve verzi D01 a graf **(b)** ve verzi A02.

4.5 Vliv počtu průměrovaných klastrů MD na přesnost explicitního modelu

V případě explicitního modelu rozpouštědla okolo molekuly kafru bylo do výpočtu Ramanových a ROA spekter vybráno pouze 15 klastrů MD z celkem 1000 klastrů dynamického vývoje. Tento počet byl vybrán nejen s ohledem na časovou náročnost optimalizace, výpočtu vibračních frekvencí a ROA intenzit těchto systémů, ale jak je z obr. 21 rovněž patrné inkrementální změna tvaru spektrálních čar nabývá nad 10 průměrovaných klastrů zanedbatelných hodnot. Výjimkou je oblast pod $400\,\mathrm{cm}^{-1}$, jež je hodně závislá na rotaci CH_3 skupin kafru, a oblast 1700 – $1900\,\mathrm{cm}^{-1}$ C=O valenční vibrace, která je, jak bylo později zjištěno, značně citlivá na tvorbu vodíkových vazeb s polárním rozpouštědlem.

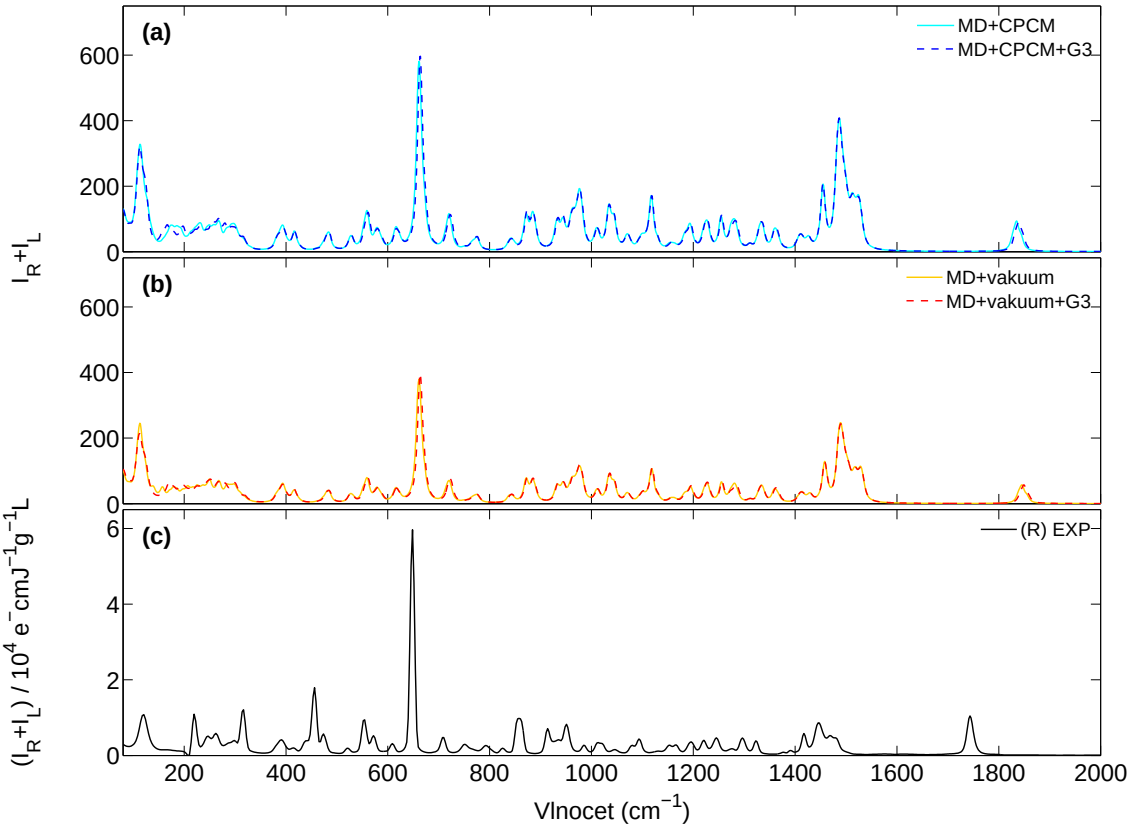
Na obr. 21 je také zobrazeno Ramanovo a ROA spektrum pro 30 klastrů MD se zvýhodněnou vodíkovou vazbou (21 klastrů s a 9 bez vodíkové vazby). Ostatní uvedená spektra byla počítána z klastrů rovnoměrně vybraných z celého dynamického vývoje.



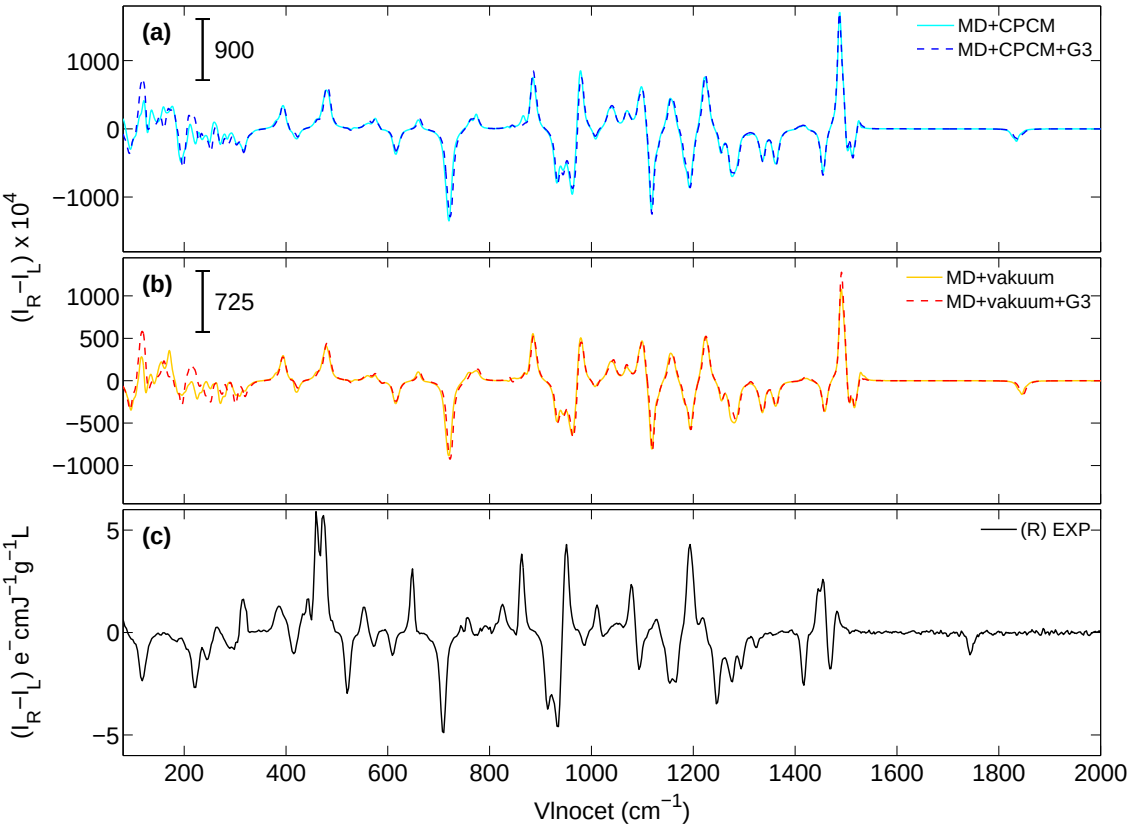
Obr. 21: Ramanovo a ROA spektrum kafru v CH_3OH průměrované z 5, 10, 15 a 30 klastrů MD v kombinaci s CPCM modelem. V případě navýšení na 30 klastrů byly preferovány případy s vodíkovou vazbou v poměru 21:9.

4.6 Empirická disperzní korekce MD modelu kafru v nepolárním rozpouštědle

U některých starších DFT funkcionálů jsou dalekodosahové (Van der Waalsovy) disperzní interakce nedostatečně popsány. Proto Stefan Grimme začlenil do Hamiltoniánu disperzní potenciál s empiricky zjištěnými parametry.[37] Na MD simulací explicitního modelu kafru v CCl_4 byla testována Grimmeho disperzní korekce 3. generace s Becke – Johnson tlumením (GD3BJ).[38, 39] V Ramanově (obr. 22) i ROA (obr. 23) spektru nebylo pozorováno zlepšení. Naopak v C=O regionu je vidět malé zhoršení pásu C=O valenční vibrace $1835\,\mathrm{cm}^{-1}$ na hodnotu $1840\,\mathrm{cm}^{-1}$. V případě takto malých systémů má tudíž tato korekce zanedbatelný vliv.



Obr. 22: Vliv Grimmeho empirické disperzní korekce na Ramanovo spektrum kafru v CCl_4. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v CPCM modelu bez (azurová) a s (modrá) využitím Grimmeho D3 disperzní korekce. **b)** Spektrum MD z 15 klastrů ve vakuu bez (žlutá) a s (červená) využitím Grimmeho D3 disperzní korekce. **c)** Experimentální Ramanovo spektrum kafru v CCl_4 pro R-enantiomer (černá).



Obr. 23: Vliv Grimmeho empirické disperzní korekce na ROA spektrum kafru v CCl_4. **a)** Spektrum MD z 15 klastrů v CPCM modelu bez (azurová) a s (modrá) využitím Grimmeho D3 disperzní korekce. **b)** Spektrum MD z 15 klastrů ve vakuu bez (žlutá) a s (červená) využitím Grimmeho D3 disperzní korekce. **c)** Experimentální ROA spektrum kafru v CCl_4 pro R-enantiomer (černá).

4.7 Analýza C=O valenční vibrace kafru v methanolu

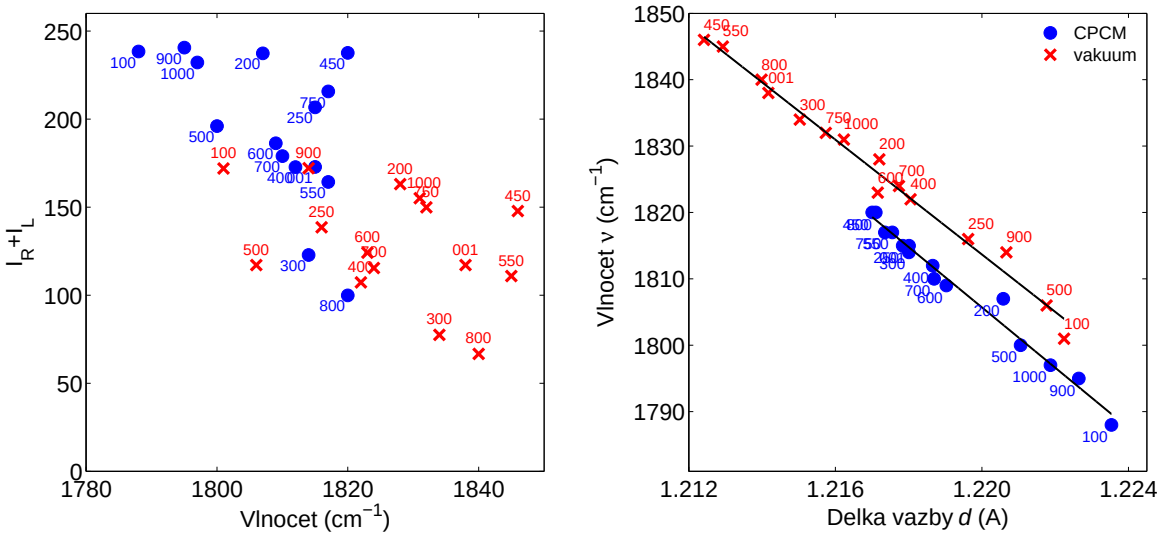
Metanol je silně polární rozpouštědlo, které utváří vodíkové vazby s kyslíkem v kafru. Nejcitlivější oblastí na tvorbu vodíkových vazeb je tudíž oblast C=O valenční vibrace od 1700 do $1900\,\mathrm{cm}^{-1}$. Jak vyplývá z experimentálních dat (obr. 6 a 7), zobrazený spektrální pás zde nabývá minimálně dvou lokálních maxim. a jednoho slabšího širokého pásu o malé intenzitě.

Za nejpřesnější teoretický model se jeví klastr explicitních molekul rozpouštědla okolo molekuly kafru generovaný molekulovou dynamikou (MD). V prvním přiblížení lze simulované klastry rozdělit dle polohy maxim v Ramanově spektru a délky C=O vazby molekuly kafru v závislosti na frekvenci, do které přispívají (obr. 24). Frekvence vibračních módů je lineárně úměrná délce C=O vazby, přičemž zahrnutí implicitního modelu CPCM okolo každého klastru způsobuje přiblížení k realitě (do nižších frekvencí dle obr. 6) a to o hodnotu $\sim 8\,\mathrm{cm}^{-1}$ danou aproximačními funkcemi

$$\tilde{\nu} = A_{\mathrm{vac}} d + B_{\mathrm{vac}} = (-4{,}32d + 7{,}09) \cdot 10^3\ \mathrm{cm}^{-1}, \tag{28a}$$

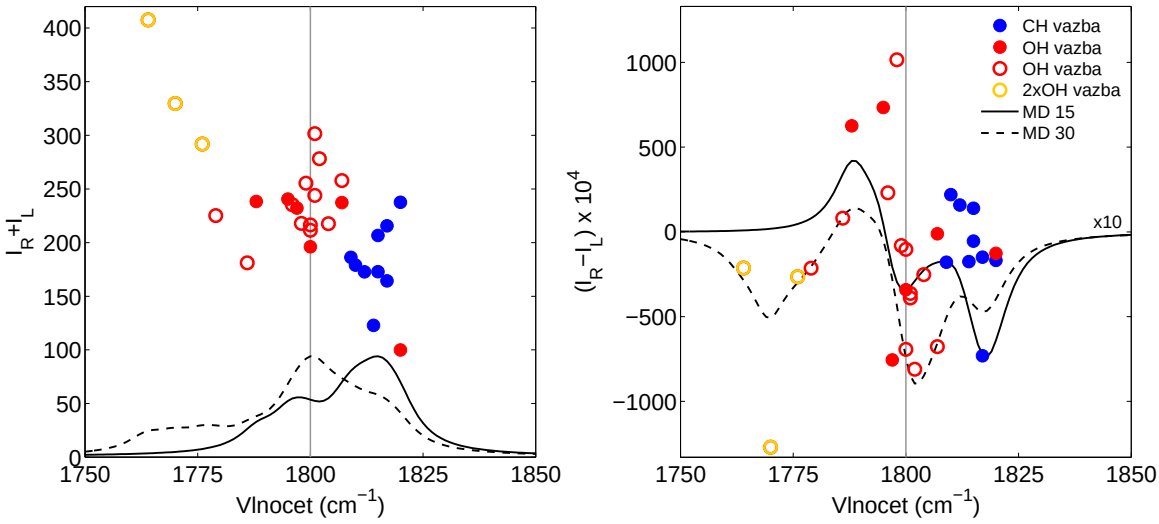
$$\tilde{\nu} = A_{\mathrm{cpcm}} d + B_{\mathrm{cpcm}} = (-4{,}54d + 7{,}35) \cdot 10^3\ \mathrm{cm}^{-1}. \tag{28b}$$

Jednotlivé klastry své pořadí ani polohu nezachovávají, jak je znázorněno čísly v grafech na obr. 24. Většina počítaných klastrů MD modelu ve vakuu přispívá do oblasti nad $1820\,\mathrm{cm}^{-1}$ a nabývá maxima Ramanovy intenzity menší než MD model s CPCM.



Obr. 24: Frekvenční závislost Ramanova pásu C=O valenční vibrace (vlevo) a délky C=O vazby (vpravo) kafru pro MD klastry explicitního modelu CH_3OH v CPCM (modrá) a vakuu (červená).

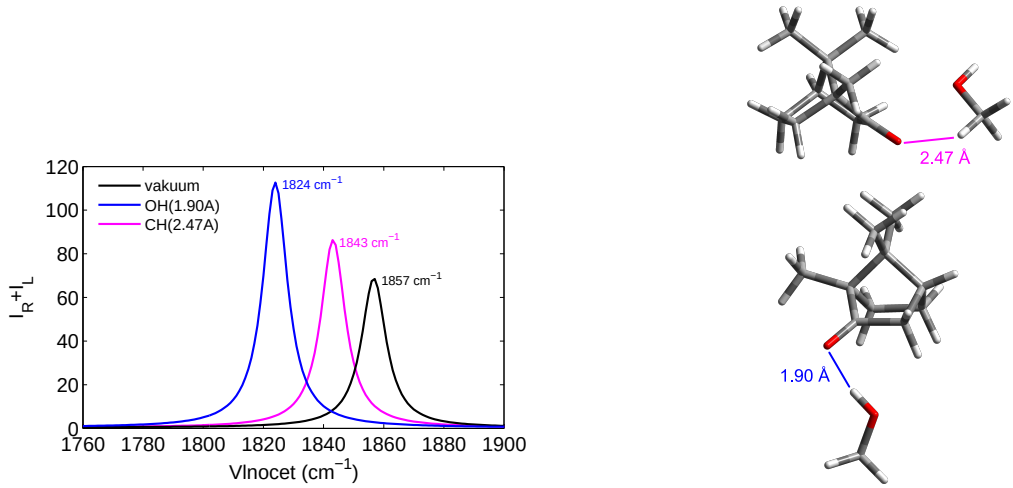
Klastry kafru v CPCM modelu metanolu byly podrobeny detailnější analýze. Na základě vzdálenosti jednotlivých atomů vodíku rozpouštědla od kyslíku molekuly kafru byly rozlišeny klastry, kdy molekula metanolu utváří vodíkovou vazbu, resp. zde figuruje jiný druh (nevodíkové) vazby, s C=O skupinou kafru. Typická délka vodíkové vazby kafr-metanolové interakce je přibližně $1{,}93$ Å v teoretickém modelu. Na obr. 25 je vykreslena spektrální kategorizace počítaných klastrů dle druhu mezimolekulární interakce kafru s metanolem. Do statisticky zpracovatelného souboru již spočítaných 15 klastrů bylo cíleně přidáno dalších 15 klastrů s vodíkovou vazbou, z nichž ve třech případech byla navíc odhalena druhá vodíková vazba.



Obr. 25: Kategorizace MD klastrů v CPCM modelu dle druhu mezimolekulární interakce kafru s metanolem působící na Ramanovo (vlevo) a ROA (vpravo) spektrum v oblasti C=O valenční vibrace. Plné body označují původních 15 klastrů MD, z nichž (OH – červená) jsou klastry tvořící vodíkovou vazbu a (CH – modrá) jsou klastry s jiným druhem „nevodíkové“ interakce. Prázdné body zastupují nově přidaných 15 klastrů s vodíkovou vazbou, kde tři žluté body vyznačují klastry s párem vodíkových vazeb působících C=O skupinu. Černá plná spektrální čára je výsledný průměr Ramanových a ROA spekter 15 klastrů MD a přerušovaná černá čára je průměr z kompletního souboru 30 klastrů MD.

Aby bylo možné odlišit vliv nalezených mezimolekulárních vazeb na spektrum, bylo třeba je izolovat. Pro tento účel byl vytvořen umělý dvoumolekulový systém o jedné molekule metanolu vhodně orientované vůči C=O skupině molekuly kafru, viz obr. 26b. Na obr. 26a je pak zobrazený Ramanův pás C=O valenční vibrace těchto modelů porovnáván s odpovídajícím spektrálním pásem kafru bez modelu rozpouštědla. Silnější vodíková vazba (OH) oslabí vibrací dvojné vazby

C=O více a způsobí tak posun daného vibračního módu směrem k nižším frekvencím o $33\,\mathrm{cm}^{-1}$ vůči referenčnímu spektru kafru ve vakuu. Interakce CH skupiny metanolu s C=O vazbou kafru způsobí posun valenční vibrace stejným směrem o $14\,\mathrm{cm}^{-1}$. Jedná se tedy o slabší interakci, za to její výskyt je podle molekulové dynamiky v klastrech s metanolem častějším jevem.

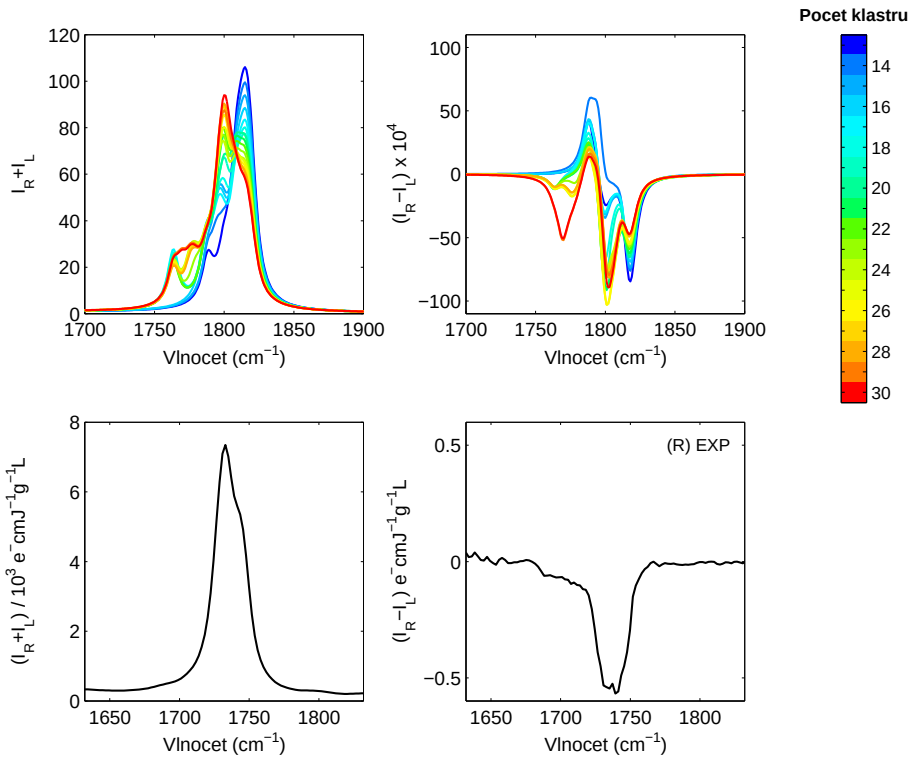


(a) Ramanovo a ROA spektrum. **(b)** Ilustrace dvou analyzovaných modelů.

Obr. 26: Interakce C=O vazby kafru s jednou molekulou metanolu. **(a)** V případě systému s uměle vytvořenou vodíkovou vazbou (OH – modrá) se Ramanův pás v oblasti C=O valenční vibrace posunul vůči spektru metanolu ve vakuu (černá) do nízkých frekvencí více než u systému s „nevodíkovou“ interakcí CH skupiny metanolu (CH – růžová). Odpovídající modely těchto dvoumolekulových systémů jsou ilustrovány vpravo **(b)**.

Profil Ramanovy a ROA spektrální oblasti C=O valenční vibrace závisí na typu mezimolekulární interakce s rozpouštědlem, vzájemné vzdálenosti molekul a jejich počtu, což přímo souvisí s koncentrací měřených vzorků. Na obr. 27 je ilustrována změna tvaru spektrálních pásů s rostoucím počtem průměrovaných klastrů MD s CPCM modelem kafru v metanolu. Soubor 13 průměrovaných klastrů, z nichž 4 tvoří vodíkovou vazbu, byl postupně rozšiřován o další klastry s alespoň jednou vodíkovou vazbou vůči molekule kafru až po celkový počet 30 klastrů. Tato simulace byla porovnávána s Ramanovým a ROA spektrem vzorku R-enantiomeru kafru v metanolu, jež byl excitován laserem o výkonu $680\,\mathrm{mW}$ po dobu $\sim 6\,\mathrm{h}$.

Simulované ROA pásy o vlnočtu 1770 a $1801\,\mathrm{cm}^{-1}$ jsou postupně zesíleny, naopak ROA pásy 1789 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ zeslabeny (obr. 27). Do ROA pásu $1770\,\mathrm{cm}^{-1}$ rovněž přispívají klastry se dvěma vodíkovými vazbami, které tak oslabují C=O vazbu kafru více než klastry s pouze jedním výskytem vodíkové vazby.

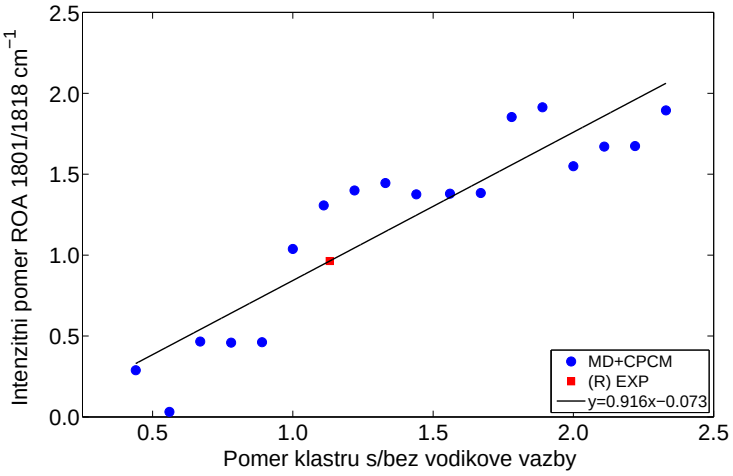


Obr. 27: Vliv počtu průměrovaných klastrů MD v CPCM dutině na spektrální oblast C=O valenční vibrace kafru v methanolu a porovnání spektrálních profilů s experimentem, při kterém byl vzorek vystaven laseru o výkonu $680\,\mathrm{mW}$ po dobu $\sim 6\,\mathrm{h}$.

Zatímco ROA pásy o vlnočtu 1770 a $1789\,\mathrm{cm}^{-1}$ nemají experimentální ekvivalenty, pásy 1801 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ odpovídají překrývajícím se pásům 1735 a $1739\,\mathrm{cm}^{-1}$. S cílem popsat tuto závislost byl poměr ROA intenzit pásů 1801 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ vynesen do grafu na obr. 28 v závislosti na poměru klastrů s/bez vodíkové vazby, z nichž se jednotlivá spektra skládají. Neznámá závislost byla v prvním přiblížení proložena lineární funkcí

$$y = 0{,}916x - 0{,}073 \tag{29}$$

za účelem kvantifikace relativního zastoupení vodíkových vazeb v naměřeném spektru. Z intenzitního poměru experimentálních ROA pásů $1735/1739\,\mathrm{cm}^{-1}$ lze odhadnout poměr mezi vodíkovými a nevodíkovými vazbami C=O skupiny molekuly kafru v metanolu hodnotou $1{,}1$ (červený bod na přímce lineární regrese v obr. 28).



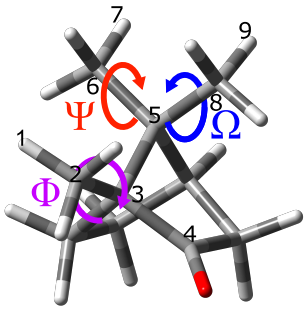
Obr. 28: Intenzitní poměr ROA pásů 1801 a $1818\,\mathrm{cm}^{-1}$ v závislosti na relativním zastoupení klastrů MD s/bez vodíkové vazby (modré body). Červené body označují experimentální data na křivce lineární regrese.

4.8 Studium dynamiky CH_3 skupin v molekule kafru v implicitním modelu

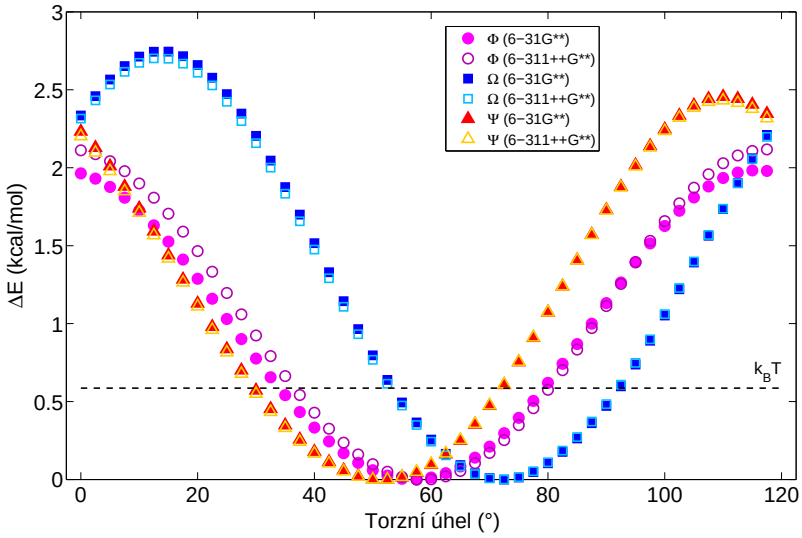
Optimalizovaný konformer v energetickém minimu má největší pravděpodobnost výskytu oproti jiným možným konformacím o vyšší energii. Přestože ostatní konformery mají menší pravděpodobnost, jejich počet může být a mohou tedy významně přispívat do celkového spektra. V této závěrečné kapitole je analyzována konformační volnost všech tří CH_3 skupin molekuly kafru v implicitním modelu CPCM prostřednictvím změn potenciální energie povrchu při rotaci těmito skupinami.

Nejprve byla provedena 1D energetická analýza na dvou výpočetních úrovních B3PW91 v bázi 6-31G** a 6-311++G**, viz obr. 30. Torzními úhly CH_3 skupin vyznačenými na obr. 30 bylo postupně manipulováno v intervalu 0 – $120°$ s krokem $2{,}5°$. Na základě této analýzy bylo zjištěno, že energetická bariéra molekuly kafru nezávisí na volbě báze.

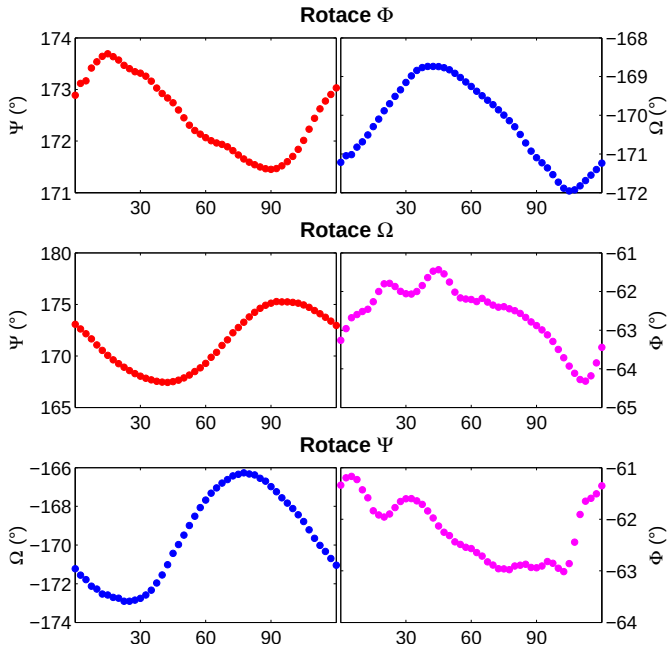
Při rotaci jedné z CH_3 skupin byly zbylé dvě ponechány volně. Vliv rotace konkrétní CH_3 skupiny na zbylé dvě je zobrazen v sérii grafů na obr. 31. Při rotaci torzním úhlem Φ jsou další CH_3 skupiny ovlivněny minimálně. Jejich torzní úhly se mění o 2 – $3°$. Rotací jedné z horních CH_3 skupin (Ψ, Ω) molekuly kafru kolísá druhá o $\pm 5°$ a boční CH_3 skupina (Φ) se skoro nemění. Lze tedy usoudit, že rotace CH_3 skupin jsou na sobě nezávislé.



Obr. 29: Molekula kafru s vyznačenými rotacemi methylových skupin (Φ: 1-2-3-4, Ψ: 7-6-5-3, Ω: 9-8-5-3).

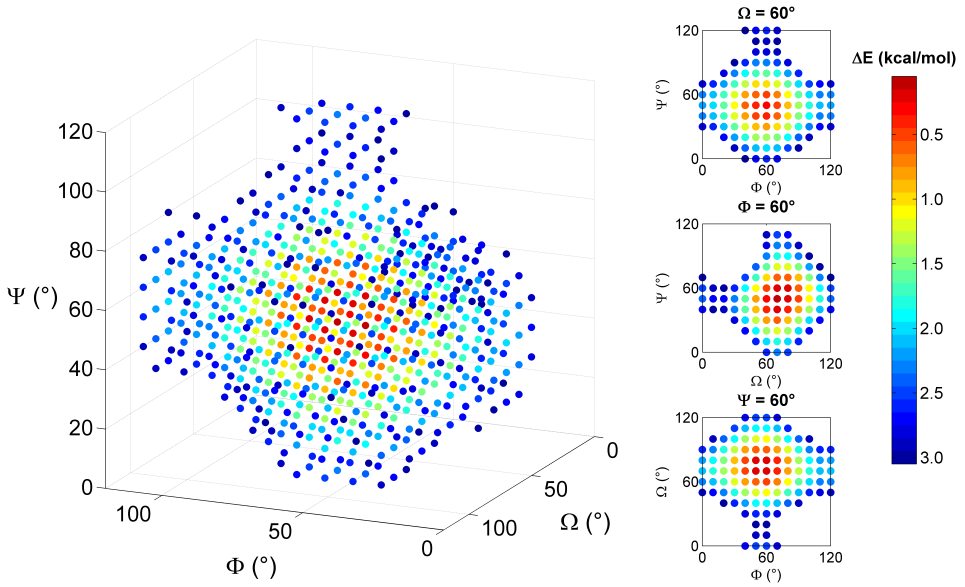


Obr. 30: 1D energetická analýza torzních úhlů CH_3 skupin molekuly kafru v CPCM modelu metanolu. Plné znaky odpovídají výpočtům na úrovni B3PW91/6-31G** a prázdné znaky výpočtům ve větší bázi 6-311++G**. k_BT označuje hladinu Boltzmannovy energie za teploty 295 K.



Obr. 31: Vliv rotace vybrané CH_3 skupiny molekuly kafru v CPCM modelu metanolu na zbylé dvě.

Jednodimenzionální energetická analýza nedokáže popsat celý objem v konformačním prostoru. V 1D mají všechny konformace stejnou četnost. Je proto žádoucí řešit potenciální energii povrchu molekuly kafru jako 3D problém. V takovém případě bylo rotováno třemi torzními úhly Φ, Ψ a Ω současně v intervalu $0 - 120°$. Energie takto generovaných konformací byly vykresleny pod $3\,\mathrm{kcal/mol}$ do prostoru torzních úhlů (obr. 32). Ortogonální řezy středem vzniklého útvaru na obr. 32 jsou pro přehlednost taktéž zobrazeny.

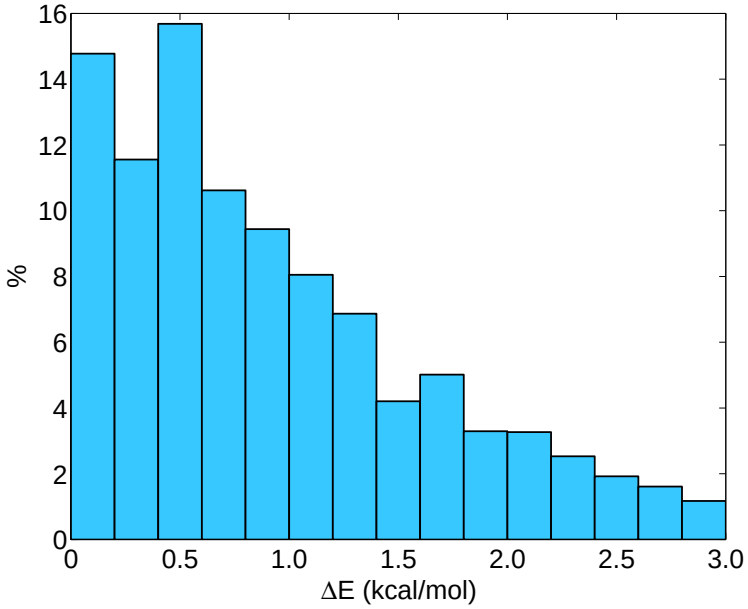


Obr. 32: 3D energetická analýza torzních úhlů CH_3 skupin molekuly kafru v CPCM modelu metanolu. S úhly bylo manipulováno od $0 - 120°$ s krokem $10°$. Zobrazeny jsou pouze konformace s energií menší než $3\,\mathrm{kcal/mol}$. Vpravo jsou pro názornost vykresleny ortogonální řezy středem zobrazeného útvaru.

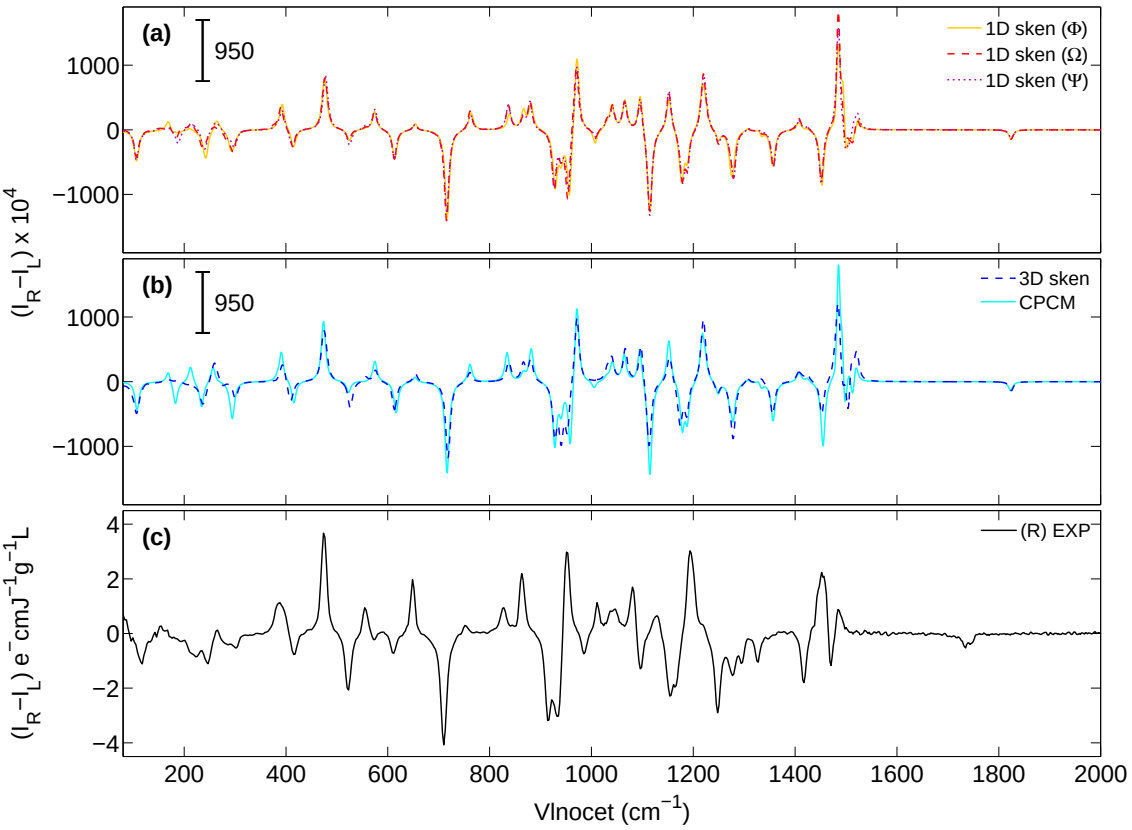
Percentuální zastoupení konformačních příspěvků s ohledem na jejich energii je uvedeno na obr. 33. Každý sloupec představuje interval $0{,}2\,\mathrm{kcal/mol}$. Toto Boltzmannovo rozdělení nemá čistě klesající průběh s rostoucí energií. Lze vidět, že konformace s energií nad $1\,\mathrm{kcal/mol}$ stále představují $\sim 45\ \%$ příspěvek a tento příspěvek není možné v žádném případě zanedbat.

Simulovaná ROA spektra Boltzmannovsky vážených průměrů generovaných konformerů z 1D a 3D energetické analýzy kafru v CPCM modelu metanolu jsou zobrazena na obr. 34. V 1D případě byly průměrovány všechny konformery, zatímco u 3D analýzy pouze výběr konformerů s energií pod $2\,\mathrm{kcal/mol}$. Na první pohled změna jedné CH_3 skupiny nepopisuje rozlišení níz-

kých vlnočtů ($< 400\ \mathrm{cm}^{-1}$) lépe než optimalizovaný konformer v energetickém minimu. Při změně všech tří CH_3 skupin však došlo k výraznému zlepšení nejen uvedené nízkofrekvenční oblasti, ale také v intervalu 1400 – $1600\,\mathrm{cm}^{-1}$, kde se nachází deštníkové vibrace CH_3 skupin kafru, a překvapivě také profilu kombinovaného pásu kolem $925\,\mathrm{cm}^{-1}$.



Obr. 33: Percentuální rozdělení Boltzmannovsky vážených konformerů vzhledem k potenciální energii $(\mathrm{kcal}/\mathrm{mol})$ molekuly kafru v CPCM modelu methanolu. Četnost konformerů v každém energetickém intervalu byla počítána ze 3D energetické analýzy rotace CH_3 skupin kafru v intervalu od 0 – $120°$ s krokem $10°$.



Obr. 34: ROA spektrum Boltzmannovsky průměrovaných konformací z 1D **(a)** a 3D **(b)** energetické analýzy molekuly kafru v implicitním CPCM modelu CH_3OH. Konformace byly generovány na základě rotace CH_3 skupin kafru v intervalu od 0 – $120°$. V případě 3D analýzy byly průměrovány pouze konformery s energií pod $2\,\mathrm{kcal/mol}$. CPCM označuje optimalizovany konformer v energetickém minimu. Všechny uvedené simulace jsou porovnávány s naměřeným ROA spektrem R-enantiomeru kafru v CH_3OH **(c)**.

Závěr

Cílem této diplomové práce bylo studium interakce vybrané organické molekuly s rozpouštědly různé polarity pomocí Ramanovy optické aktivity.

K tomu účelu bylo nejprve třeba seznámit se se základy teorie a experimentálního měření Ramanovy optické aktivity. S ohledem na budovaný ROA spektrometr na Katedře optiky PřF UP v Olomouci byla teorie zaměřena na popis ROA v nerezonančním přiblížení a pro experimentální uspořádání v geometrii zpětného rozptylu ($180°$) a SCP schématem modulace. Pozornost byla poté věnována *ab initio* výpočetním metodám, molekulové dynamice a modelům rozpouštědla užitých při simulacích měřených Ramanových a ROA spekter.

Na teoretickou část bylo navázáno popisem experimentální aparatury, postupu a podmínek měření Ramanových a ROA spekter obou enantiomerů kafru ve vybraných zástupcích polárních (metanol, voda) a nepolárních (cyklohexan, tetrachlormetan) rozpouštědel. Byla vysvětlena metodika výpočtu simulací v implicitních (PCM, CPCM) a explicitních modelech (MD) rozpouštědla.

Hlavní přínos této práce spočíval v interpretaci míry interakce kafru s jednotlivými rozpouštědly, zejména pak v diskuzi přesnosti dílčích teoretických modelů rozpouštědel. Klíčovým bodem diskuze získaných výsledků byla detailní analýza vodíkových vazeb kafru v metanolu a jejich příspěvku do oblasti C=O valenční vibrace. Experimentálně určenému spektru kafru v metanolu bylo na základě explicitního modelu přiřazeno relativní zastoupení vodíkově vázaných molekul kafru. Práce byla završena studiem konformační volnosti metylových skupin kafru. Bylo zjištěno, že CH_3 skupiny jsou poměrně flexibilní a lze očekávat velké množství konformací v měřeném vzorku.

V nejbližší době bude pozornost věnována rozšíření spektrálního rozsahu nad $2000\,\mathrm{cm}^{-1}$. Již byla naměřena data zahrnující módy CH valenčních vibrací pro oba enantiomery kafru ve studovaných rozpouštědlech, ale jejich interpretace s potřebným zahrnutím anharmonických korekcí přesahovala rámec této diplomové práce. Plánujeme se jim však do budoucna věnovat. Cílem do budoucna je také porovnání vypočtených a experimentálních absolutních intenzit Ramanova a ROA spektra.

Reference

[1] Goldstein, D. H.; Collect, E., *Polarized light.* 2nd ed., Marcel Dekker: New York, 2003.

[2] Michal, P., *Muellerova polarimetrie rozhraní dvou izotropních prostředí*. Bakalářská práce, Univerzita Palackého: Olomouc, 2015.

[3] Polavarapu, P. L., *Chiroptical Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Taylor & Francis: Boca Raton, Fla, 2017.

[4] Harris, D.C.; Bertolucci M. D., *Symmetry and Spectroscopy: An Introduction to Vibrational and Electronic Spectroscopy*. Dover Publications: New York, 1989.

[5] Kapitán, J., *Teoretický a experimentální rozvoj Ramanovy optické aktivity jako metody studia biomolekul ve vodném prostředí*. Dizertační práce, Univerzita Karlova: Praha, 2006.

[6] Bouř, P., *Základy kvantových výpočtů vlastností molekul*. Skripta, VŠCHT: Praha, 2003.

[7] Nafie, L. A.; Che, D., Theory and Measurement of Raman Optical Activity. In *Modern Nonlinear Optics, Part 3*, Evans, M.; Kielich, S., 'Eds.', Wiley: New York, 1994; 'Vol.' 85, pp 105-149.

[8] Barron, L. D., *Molecular Light Scattering and Optical Activity, Second Edition*. Cambridge University Press: Cambridge, 2009.

[9] Placzek, G., Rayleigh-Streuung und Raman-Effekt. In *Handbuch der Radiologie*, Marx, E., 'Ed.', Akademische Verlagsgesellschaft: Leipzig, 1934; 'Vol.' 6, pp 205-.

[10] Pulay, P.; Fogarasi, G.; Pang, F.; Boggs, J. E., Systematic ab initio gradient calculation of molecular geometries, force constants, and dipole moment derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, (10), 2550-2560.

[11] Pulay, P.; Fogarasi, G., Geometry Optimization in Redundant Intermal Coordinates. *J. Chem. Phys.* 1992, 96, (4), 2856-2860.

[12] *Gaussian 09, Revision D.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.

[13] Bouř, P.; Keiderling, T. A., Partial optimization of molecular geometry in normal coordinates and use as a tool for simulation of vibrational spectra. *J. Chem. Phys.* 2002, 117, (9), 4126-4132.

[14] Bouř, P., Convergence Properties of the Normal Mode Optimization and its Combination with Molecular Geometry Constraints. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 2005, 70, 1315-1340.

[15] Parchaňský, V.; Kapitán, J.; Bouř, P., Inspecting chiral molecules by Raman optical activity spectroscopy. *RSC Adv*. 2014, 4, (100), 57125-57136.

[16] Kohn, W.; Sham, L. J., Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* 1965, 140, (4A), A1133-A1138.

[17] Becke, A. D., Density Functional Thermochemistry. 3. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* 1993, 98, (7), 5648-5652.

[18] *Tinker Version 7.2.1*, Washington University School of Medecine: Saint Louis, 2000.

[19] Hopmann, K. H.; Ruud, K.; Pecul, M.; Kudelski, A.; Dračínský M.; Bouř P., Explicit versus Implicit Solvent Modeling of Raman Optical Activity Spectra. *J. Phys. Chem. B.* 2011, 115, (14), 4128-4137.

[20] Tomasi, J. D.; Mennucci, B.; Cammi, R., Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev.* 2005, 105 (8), pp 2999–3094.

[21] Klamt, A.; Schuurmann, G., COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient Inspecting chiral molecules by Raman optical activity spectroscopy. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*. 1993, 5, 779-805.

[22] Cheeseman, J. R.; Majeed, S. S.; Popelier, P. L. A.; Blanch, E. W., Calculation of Raman Optical Activity Spectra of Methyl-β-D-Glucose Incorporating a Full Molecular Dynamics Simulation of Hydration Effects. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, (13), pp 4991–4997.

[23] Bouř, P.; Michalík, D.; Kapitán, J., Empirical solvent correction for multiple amide group vibrational modes. *J. Chem. Phys.* 2005, 122, (14), 144501-9.

[24] Polavarapu, P. L., Molecular Structure Determination Using Chiroptical Spectroscopy: Where We May Go Wrong? *Chirality*. 2012, 24, (11), 909-920.

[25] Schrader, B.; Bougeard, D., *Infrared and Raman spectroscopy: methods and applications*. VCH: New York, c1995, 151-153.

[26] Schrötter, H. W.; Klöckner, H. W., Raman Scattering Cross Sections in Gases and Liquids. *Topics in Current Physics.* 1979, 'Vol.' 11, pp 123-166.

[27] Hug, W., Virtual Enantiomers as the solutuion of Optical Activity's Deterministic Offset Problem. *Appl. Spectrosc.* 2003, 57, (1), 1-13.

[28] Franzen, A., ComponentLibrary. *Gwoptics.org* [online], 2009 [cit. 2017-03-23]. Dostupné z: `http://www.gwoptics.org/ComponentLibrary/`.

[29] Kapitán, J.; Barron, L. D.; Hecht, L., A novel Raman optical activity instrument operating in the deep ultraviolet spectral region. *J. Raman Spectrosc.* 2015, 46, (4), 392-399.

[30] Bouř P.; Maloň, P., *MCM 95*, The Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences: Prague, 2014. [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: `http://hanicka.uochb.cas.cz/~bour/`.

[31] Kaminski, G.; Friesner, R. A.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L., Evaluation and Reparametrization of the OPLS-AA Force Field for Proteins via Comparison with Accurate Quantum Chemical Calculations on Peptides. *J. Phys. Chem. B.* 2001, 105, 6474-6487.

[32] Rizzo, R. C.; Jorgensen, W. L., OPLS All-Atom Model for Amines: Resolution of the Amine Hydration Problem. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 4827-4836.

[33] Bouř, P., *Xshell*, The Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences: Prague, 2016. [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: `http://hanicka.uochb.cas.cz/~bour/programs/list.html`.

[34] Bouř, P., *Qgrad*, The Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences: Prague, 2006 [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: `http://hanicka.uochb.cas.cz/~bour/programs/list.html`.

[35] Kapitan, J.; Johannessen, C.; Bouř, P.; Hecht, L.; Barron, L. D., Vibrational Raman optical activity of 1-phenylethanol and 1-phenylethylamine: Revisiting old friends. *Chirality.* 2009, 21, (1E), E4-E12.

[36] Hudecová, J.; Profant, V.; Novotná, P.; Baumruk, V.; Urbanová, M.; Bouř, P., CH Stretching Region: Computational Modeling of Vibrational Optical Activity. *J. Chem. Theory Comput.* 2013, 9, (7), 3096–3108.

[37] Schwabe, T.; Grimme, S., Double-hybrid density functionals with long-range dispersion corrections: higher accuracy and extended applicability. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2007, 9, (26), 3397-3406.

[38] Grimme, S.; Antony, J.; Ehrlich, S.; Krieg, H., A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *J. Chem. Phys.* 2010, 132, (15), 154104-.

[39] Grimme, S.; Ehrlich, S.; Goerigk, L., Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.* 2011, 32, (7), 1456-1465.