

## HMOTNOSTNÍ ANALYZÁTOR DOBY LETU

**MICHAEL VOLNÝ**

*Mikrobiologický ústav AV ČR v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20  
Praha 4  
mvolny@gmail.com*

Došlo 14.11.19, přijato 16.12.19.

Tento text původně vznikl na AV ČR, současné zaměstnání autora je ve firmě Thermo Fisher Scientific.

---

**Klíčová slova:** hmotnostní spektrometrie, analyzátor doby letu, analyzátor TOF, iontové zrcadlo, zpožděná extrakce iontů, ortogonální analyzátor TOF, kalibrace

---

### Obsah

1. Úvod
2. Základní princip a doba letu iontů
3. Lineární provedení hmotnostního spektrometru doby letu
4. Provedení hmotnostního analyzátoru doby letu s použitím iontového zrcadla
5. Metastabilní ionty
6. Zpožděná extrakce iontů (též zaostření časovou prodlevou)
7. Ortogonální provedení hmotnostního analyzátoru doby letu
8. Hmotnostní kalibrace
9. Vliv vakua
10. Spirálové, kruhové a další provedení hmotnostního analyzátoru doby letu

### 1. Úvod

Samotný princip analyzátoru doby letu (jakkoliv je tento český název plně odpovídající, v tomto textu bude používán výraz analyzátor TOF, tedy zkratka z anglického Time-of-flight) je jednoduchý. Ionty s různým  $m/z$  jsou rozděleny v čase v důsledku různé rychlosti, kterou vykazují během pohybu letovou trubicí známé délky. Pokud jsou ionty o stejném nábojovém čísle a s totožnou počáteční rychlostí ve směru letu urychleny v daný čas stejným napětím, tak lehčí z nich dorazí na detektor, umístěný na konci letové trubice, dříve než těžší. Takový experiment ovšem předpokládá, že analyzované ionty se netvoří v iontovém zdroji kontinuálně, ale v oddělených skupinách. Toho lze dosáhnout dvěma způsoby. Buď použitím pulzního iontového zdroje, což je řešení, které je použito v kombinaci s ionizací MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) a dalšími desorpčně-ionizačními

technikami, nebo pulzní extrakcí z kontinuálního iontového paprsku.

Princip analyzátoru TOF byl představen v dubnu roku 1946 na konferenci Americké fyzikální společnosti Williamem Stephensem<sup>1</sup>. Prvním komerčním hmotnostním spektrometrem na tomto principu byl spektrometr vyrobený pobočkou detroitské firmy Bendix Corporation v Cincinnati. Stalo se tak v 50. letech 20. století a tento přístroj, který je významný i tím, že se jednalo o první komerčně úspěšný hmotnostní spektrometr založený na jiném analyzátoru než magnetickém sektoru, byl určen především jako detektor k plynové chromatografii (GC)<sup>2</sup>. Jeho předností oproti tehdy používanému sektorovému hmotnostnímu spektrometru byla rychlost, která ospravedlňovala i poměrně špatné rozlišení. Hmotnostní analyzátor TOF byly jako detektory pro GC poměrně záhy nahrazeny kvadrupóly a později trojitými kvadrupóly (a po určitou dobu také iontovými pastmi). V poslední době se ovšem nová generace analyzátorů TOF opět hlásí o slovo i v této oblasti. I nadále totiž platí, že analyzátor TOF je nejrychlejší ze všech hmotnostních analyzátorů a problémy s nízkým rozlišením byly postupně odstraněny.

Historicky druhý rozvoj analyzátorů TOF a jejich technických možností nastal až po objevu a zavedení ionizace MALDI<sup>3</sup>. Spojení iontového zdroje na principu techniky MALDI a analyzátoru TOF představuje téměř ideální partnerství. MALDI je pulzní ionizační technika a navíc vytváří především jednou nabitě ionty – a to i v případě makromolekul o extrémně velkých molekulárních hmotnostech<sup>4</sup>. Výhodou analyzátoru TOF oproti všem dalším hmotnostním analyzátorům je absence teoretického horního limitu hmotnostního spektra: V principu je možné použít analyzátor TOF pro analýzu libovolně velkých  $m/z$ . Praktickým limitem je ovšem jejich detekce, protože velké pomalé ionty při dopadu na detektor nezpůsobí dostatečnou odezvu, což se následně projevuje nízkou citlivostí. Proto se pro detekci velmi velkých iontů někdy používají specializované detektory, např. kalorimetrické detektory pracující za velmi nízké teploty. Toto téma je však nad rámec referátu. Další výhodou je způsob, kterým se dosáhne hmotnostní analýzy. Analyzátor TOF posbírání všechny ionty vzniklé z příslušného ionizačního pulzu, např. z několika po sobě jdoucích dopadů laserového paprsku. Výraz „všechny ionty“ je třeba chápat jako popis teoretického fungování analyzátoru TOF. V reálném provedení některé ionty samozřejmě zaniknou v iontovém zdroji a také je třeba uvážit nezbytné ztráty při přenosu iontů na různých prvcích iontové optiky. Během jednoho průletu letovou trubicí se získá celé hmotnostní spektrum v plném rozsahu  $m/z$ , a to během několika desítek mikrosekund. Analyzátor TOF je tedy řádově rychlejší než všechny ostatní hmotnostní analyzátor, byť v softwarovém uživatelském rozhraní se do jednoho výsledného hmotnostního

spektra obvykle shromažďují spektra z celé řady průletu iontů. (Uživatel tedy nastavuje doby spektra v rozmezí stovek milisekund až sekund). Moderní analyzátoři TOF se zlepšenou prostupností průletu iontů plně využívají toho, že žádné ionty nemusí být při měření hmotnostního spektra vyloučeny a patří k nejcitlivějšímu typu hmotnostních spektrometrů. Jsou rovněž schopny vysokého rozlišení (dnes již často lepší než magnetické sektory s dvojnásobnou fokusem, které historicky představovaly definiční standard vysokého rozlišení) a je možné je použít i k získání tandemových hmotnostních spekter. V neposlední řadě je třeba uvést, že hmotnostní spektrometry s analyzátořem TOF je možné relativně snadno miniaturizovat a používají se tedy v řadě přenosných a mobilních aplikacích. V této oblasti mají bohatou historii a hmotnostní spektrometry s analyzátořem TOF byly vyslány do vesmíru i na jiné planety již před desítkami let.

## 2. Základní princip a doba letu iontů

Ze základních fyzikálních vztahů lze odvodit, že potenciální energie  $E_{el}$  získaná nabitou částicí o náboji  $q$  v poli o napětí  $U$  je dána následujícím vztahem:

$$E_{el} = qU = ezU \quad (1)$$

kde  $z$  je nábojové číslo a  $e$  elementární náboj.

Při translačním pohybu je tato potenciální energie převedena v energii kinetickou:

$$E_{el} = ezU = mv^2/2 = E_{kin} \quad (2)$$

kde  $v$  je rychlost a  $m$  hmotnost. Pro částici s nulovou počáteční rychlostí je výsledná rychlost dána vztahem:

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m}} \quad (3)$$

Známy vztah mezi rychlostí  $v$ , dráhou  $l$  a časem  $t$ :

$$t = l/v \quad (4)$$

umožňuje dosazením vyjádřit dobu letu nabitě částice v letové trubici o délce  $l$  při jednorázovém urychlení elektrickým polem o napětí  $U$ :

$$t = \frac{l}{\sqrt{\frac{2ezU}{m}}} \quad (5)$$

A dále platí vztah mezi poměrem hmotnosti, nábojovým číslem a dobou letu:

$$m/z = 2eUt^2/l^2 \quad (6)$$

Zde je použita hmotnost vyjádřena v kg jako jednotkách SI a nikoliv Daltonech. Nejedná se tedy přímo o poměr  $m/z$  vynášený v hmotnostním spektru na ose  $x$ .

Samotnou dobu letu lze pak vyjádřit jako:

$$t = \frac{l}{\sqrt{2eU}} \cdot \sqrt{\frac{m}{z}} \quad (7)$$

Časový interval mezi přiletem dvou iontů je tedy závislý na rozdílu druhých odmocnin podílu hmotnosti a nábojového čísla. To tedy znamená, že s rostoucí hodnotou  $m/z$  dochází ke zkracování intervalu mezi ionty a k jejich rozlišení je zapotřebí čím dál rychlejšího měření. Protože se jedná řádově o nanosekundové intervaly, představovalo měření takto krátkých časů značné technické omezení. Až několik posledních generací hmotnostních spektrometrů s dobou letu tedy díky moderní elektronice poskytuje dostatečný výkon kompetitivní s ostatními hmotnostními spektrometry s vysokým rozlišením. Detailní popis principů a více podrobností o vývoji a současném stavu analyzátořů TOF lze nalézt v další literatuře<sup>5–11</sup>.

## 3. Lineární provedení hmotnostního spektrometru doby letu

Lineární hmotnostní spektrometr s analyzátořem TOF je dnes používán téměř výhradně v kombinaci s desorpční ionizací z povrchu pro detekci iontů s velkou hodnotou  $m/z$  a případně v některých specifických aplikacích. V tomto uspořádání jsou ionty nejprve vytvořeny ionizačním pulzem (nejčastěji dopadem laserového paprsku) na vodivou desku se vzorkem. Urychlující napětí je vloženo mezi tuto desku a uzemněnou protielektrodu. Urychlující napětí vyvede ionty z iontového zdroje do letové trubice, což je oblast bez jakéhokoliv pole, obvykle o délce jednoho až několika metrů. Na konci letové trubice je umístěn detektor, multikanálová destička (v originále multichannel plate, MCP) se zesilovačem a převodník signálu s velmi rychlou digitalizací výstupního signálu<sup>12</sup>.

Celková doba letu iontů se skládá z několika komponent:

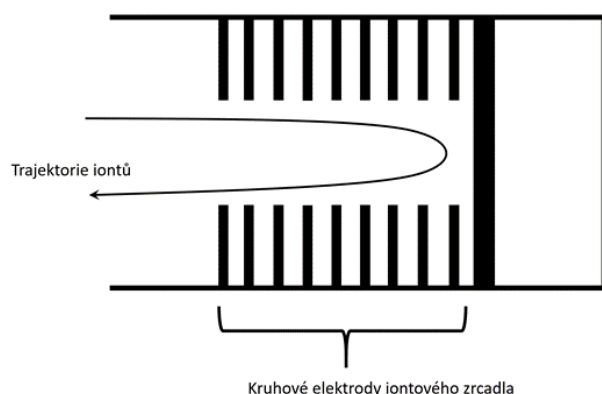
$$t_{\text{celkový}} = t_i + t_u + t_l \quad (8)$$

kde  $t_i$  je doba potřebná k dokončení desorpčně-ionizačního procesu a vytvoření iontů,  $t_u$  je doba potřebná k urychlení iontů a  $t_l$  je samotná doba letu v letové trubici. Hlavní problém klasického lineárního analyzátoři TOF je skutečnost, že ionty, které vznikly desorpční ionizací, nesou poměrně široké rozdělení počáteční energie v důsledku širokého rozdělení rychlostí. Protože tato počáteční energie se přidává k energii získané urychlením v elektrickém poli, může dojít k tomu, že nechtěné počáteční rozdíly v distribuci energie smažou rozdíly mezi ionty o různém  $m/z$  získané působením urychlujícího napětí. K tomu se přidávají další efekty, které přispívají k nerovnoměrnému rozdělení počátečních podmínek: Ionty nevznikají ve stejnou chvíli, mají různý počáteční směr rychlosti a různé počáteční pozice, ze kterých byly ionizovány. Z kombinace všech těchto důvodů vyplývá pro jednoduchý lineární analyzátoři TOF ve spojení s desorpční ionizací omezení rozlišení na hodnotě přibližně 500.

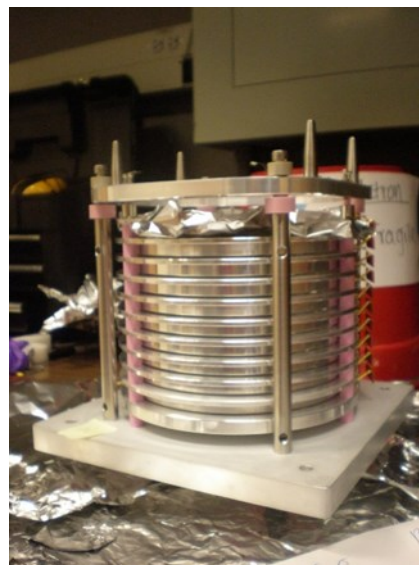
#### 4. Provedení hmotnostního analyzátoru doby letu s použitím iontového zrcadla

Iontové zrcadlo, někdy nazývané reflektor a původně také reflektron (rTOF nebo reTOF) bylo popsáno Mamyrinem<sup>13,14</sup> v roce 1973, ale komercializováno bylo až v 90. letech. Tento prvek iontové optiky funguje jako zrcadlo, které vrací ionty nazpět (ionty jsou postupně vráceny nazpět polem s opačnou polaritou, než mělo urychlovací napětí; nejedná se tedy o odraz v pravém slova smyslu, např. od povrchu). Iontové zrcadlo pomáhá kompenzovat rozdíly v době letu způsobené širokým rozdělením kinetických energií, které mohou mít ionty se stejným poměrem hmoty a náboje ( $m/z$ ). Bez této kompenzace by i stejné ionty dorazily na detektor ve velmi různý čas, a to v závislosti na počáteční rychlosti. Iontové zrcadlo tedy zaostruje paprsek v prostoru a redukuje časové rozdíly doby letu mezi ionty se stejným  $m/z$ .

Iontové zrcadlo se sestává z kruhových elektrod spojených odpory tak, aby jejich potenciál postupně narůstal (obr. 1 a obr. 2). Zvolené napětí je opačné a má větší absolutní hodnotu než urychlovací napětí, čímž je zaručeno, že všechny ionty budou nakonec vypuzeny. Ionty vstoupí do iontového zrcadla a okamžitě na ně začne působit opačné brzdné pole. Každý ion se dostane tak hluboko, dokud složka jeho kinetické energie spojená s rychlostí ve směru paralelní s osou iontového zrcadla, neklesne na nulu (nutno říci, že se prakticky jedná o pokles kinetické energie na nulu, neboť ostatní složky kinetické energie jsou zanedbatelné). V tom okamžiku se ion začne pohybovat opačným směrem zpět z iontového zrcadla a na výstupu má opět počáteční kinetickou energii (ale opačný směr letu). Iontové zrcadlo tedy nemění kinetickou energii iontů, ale ovlivňuje délku dráhy a tím i dobu letu. Ionty rychlejší (tedy s větší kinetickou energií) se dostanou hlouběji a stráví v iontovém zrcadle delší čas, než ionty pomalejší. Tím dochází ke korekci doby letu, která zásadním způsobem vylepšuje rozlišení hmotnostního analyzátoru TOF. Zároveň dochází i k částečnému zaostrění úhlového rozptylu iontů. Již původní Mamyrinovo řešení používalo iontové zrcadlo posazené tak, aby bylo nepatrně vychýleno



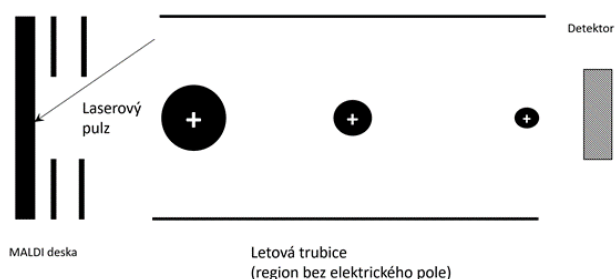
Obr. 1. Schéma iontového zrcadla



Obr. 2. Iontové zrcadlo. Kruhové elektrody mají tvar obručí nasazených na minimálně tři rovnoběžné tyče, které mají za úkol držet přesnou geometrii. Fyzicky jsou oddělené nevodivými keramickými podložkami, elektricky jsou naopak spojené rezistory, které vytvářejí elektrické pole s konstantním gradientem potenciálu

z osy přístroje a tedy, aby iontový svazek vstoupil pod určitým úhlem. Díky tomu ionty iontové zrcadlo pod úhlem i opustí a je tedy možné do uspořádání zařadit detektor tak, aby nebránil původnímu iontovému svazku vystupujícímu z iontového zdroje. Schéma obou uspořádání, lineárního i s iontovým zrcadlem, je na obr. 3 a obr. 4. Zlepšení rozlišení při použití iontového zrcadla je skutečně významné a i když se rozlišení s rostoucím  $m/z$  zhoršuje, lze analyzátor TOF s iontovým zrcadlem považovat, na rozdíl od lineárního analyzátoru TOF, za hmotnostní analyzátor s vysokým rozlišením.

V praxi se používají několikastupňová iontová zrcadla (obvykle dvoustupňová) k dosažení ještě lepšího zaostrění iontů, a tedy rozlišení. Ve většině komerčních hmotnostních spektrometrů je na konci iontového zrcadla umístěn detektor. To umožňuje, aby při vypnutí napětí iontové zrcadlo sloužilo jako běžná letová trubice, přičemž ionty jsou detegovány na detektoru umístěném za iontovým zrcadlem. Hmotnostní spektrometr s vypnutým iontovým zrcadlem tedy funguje jako lineární analyzátor TOF. Díky tomu je možné na jednom hmotnostním spektrometru získat jak spektra malých iontů v dostatečném rozlišení pomocí iontového zrcadla, tak i spektra iontů, které jsou pro iontové zrcadlo příliš velké a je možné je měřit pouze v lineárním uspořádání. Použití iontového zrcadla také prodlužuje dráhu letu (ionty letí stejný úsek dvakrát), ale to má podstatně menší vliv na zvýšení rozlišení než samotná kompenzace rozdělení rychlostí.



Obr. 3. Schéma lineárního analyzátoru TOF. Ionty o menším  $m/z$  (při stejném nábojovém čísle budou rychlejší lehčí ionty) dorazí na detektor dříve

## 5. Metastabilní ionty

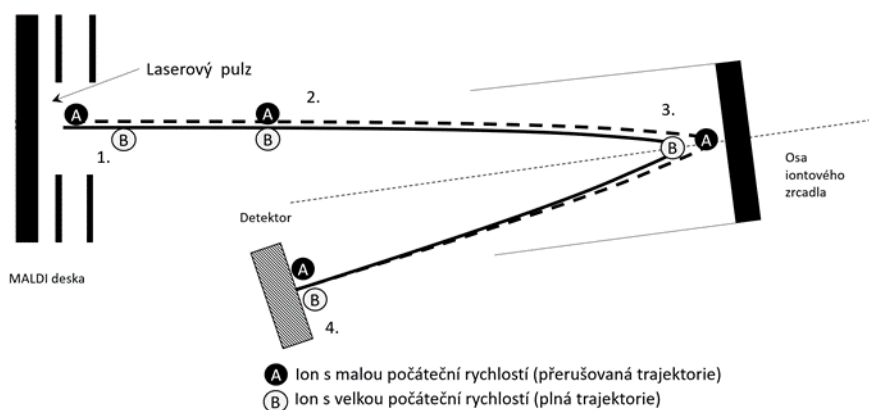
Pokud se v lineárním analyzátoru TOF vyskytují metastabilní ionty, které se rozpadnou během průletu letovou trubicí, pak se tato fragmentace neprojeví ve výsledném hmotnostním spektru. Vzniklé fragmenty si totiž zachovávají stejnou rychlost jako prekurzorový ion. Budou mít samozřejmě rozdílnou kinetickou energii, ale to nemá vliv na dobu letu a fragmenty tedy dopadnou na detektor spolu s prekurzorovým iontem. Protože jsou vícekanálové detektory typu MCP citlivé i na neutrální částice, dojde i k detekci neutrálních fragmentů, což je jeden z mála případů v hmotnostní spektrometrii, kdy se v hmotnostním spektru projeví i částice bez náboje.

V případě iontového zrcadla je však situace jiná. Pokud dojde k fragmentaci metastabilního iontu před vstupem do iontového zrcadla, tak je tento ion ve většině případů pro detekci ztracen (změní se totiž jeho kinetická energie). Velké ionty, od kterých odpadne pouze malá

část, a původní kinetická energie je tedy fragmentací ovlivněna pouze relativně málo, mohou být i nadále detegovány, byť ne při úplně stejném  $m/z$ . Ve spektru se taková situace pozná podle rozšiřování výsledných píků. Pokud ionty fragmentují po opuštění iontového zrcadla na cestě do detektoru, tak je situace stejná jako v případě lineárního analyzátoru TOF a ve spektru se to neprojevuje. Z tohoto důvodu platí, že k detekci labilnějších iontů jsou výhodnější iontová zrcadla s menší délkou a tedy kratší dráhou letu, byť jsou schopny menšího rozlišení.

## 6. Zpožděná extrakce iontů (též fokusace časovou prodlevou)

Zmínili jsme, že rozptyl energie nově vzniklých iontů má zásadně negativní vliv na rozlišení analyzátorů TOF při spojení s desorpční ionizací z povrchu. To je významným problémem zejména v MALDI, kde počáteční rychlost iontů je prakticky nezávislá na hmotnosti, což pochopitelně způsobí široké rozdělení kinetických energií a následně velmi špatné rozlišení iontů podle  $m/z$ . Dalšími parametry, které mohou ovlivnit počáteční vlastnosti iontů o stejném  $m/z$ , jsou i doba vzniku iontu nebo prostorová disperze. Tento problém lze do značné míry kompenzovat tím, že se mezi vznik iontů a jejich urychlení pomocí vysokého napětí vloží časová prodleva. Tato metoda byla vypracována již v padesátých letech minulého století Wileym a McLarenem a byla součástí jejich prvního komerčního hmotnostního spektrometru s analyzátozem TOF v Bendix Corporation<sup>15</sup>. Wiley a McLaren uvedli iontový zdroj se dvěma stupni, což umožnilo změnu napětí na prostřední elektrodě měnit intenzitu extrakčního elektrického pole (v 1. stupni) beze změny celkového urychlovacího napětí. Původně byla metoda zpožděné extrakce ozna-



Obr. 4. Schéma analyzátoru TOF s iontovým zrcadlem. Obrázek zachycuje čtyři postupné situace pro dva ionty o stejném  $m/z$ . Ion A (přerušená čára trajektorie) je na začátku pomalejší (situace 1), zatímco ion B (plná čára trajektorie) je napřed. V určité vzdálenosti (situace 2) se oba ionty dostanou do stejné roviny v důsledku použití pulzní extrakce (první zaostření). V iontovém zrcadle pak budou oba zároveň v extrémních parabol (situace 3), ale v opačném pořadí (Ion A s nižší počáteční rychlostí byl pulzem urychlen na vyšší rychlost než ion B a dostane se tedy hlouběji do iontového zrcadla). Po druhém zaostření iontovým zrcadlem pak oba ionty o stejném  $m/z$  dopadnou na detektor společně (při stejné vzdálenosti obou fokálních rovin)

čena jako „Time-Lag Energy Focusing“, ale v důsledku postupného zlepšování a komercializace nese hned několik názvů: „time lag focusing“ (TLF, Waters), „delayed extraction“ (DE, Sciex), „pulsed ion extraction“ (PIE, Bruker). Jedná se ale vždy o identický přístup, ve kterém jsou ionty po vzniku nejprve ponechány bez jakéhokoliv vnějšího silového pole. Díky tomu se prostorově rozdělí v závislosti na velikosti a směru počáteční rychlosti. Skutečnost, že oblak vzniklý po desorpci z povrchu má čas na to, aby se rozdělil, je výhodou i z toho důvodu, že se sníží počet vysokoenergetických srážek a tím limituje případná kolizní fragmentace v iontovém zdroji, další srážkové procesy a dodatečné rozšiřování rozdělení translační energie. Také se předpokládá, že během této doby dojde k ukončení všech fotochemických procesů způsobených původním laserovým ozářením. Následně je vložen rychlý vysokonapětový puls. Ideální doba prodlevy pro dosažení nejlepšího rozlišení záleží na  $m/z$  zkoumaného iontu, obvykle 80–200 ns (cit.<sup>16</sup>).

Ionty, které měly větší počáteční rychlost ve směru ven z iontového zdroje, se během časové prodlevy dostaly blíže k extrakční elektrodě. Když je vložen vysokonapětový puls, jsou následně vystaveny menšímu urychlovacímu potenciálu než ionty, které jsou dále od elektrody. To vede ke kompenzaci počátečního rozdělení rychlostí, neboť pomalé a vzdálenější ionty jsou urychleny více a naopak. Konstrukčně je zdroj rozdělen na dvě části tak, že se mezi desku se vzorkem a protielektrodu přidá další elektroda. Pulsní napětí se potom vkládá mezi tuto prostřední elektrodu a desku<sup>17</sup>. Po proběhnutí zpožděné extrakce jsou ionty s již kompenzovaným rozdělením rychlostí dále urychleny konstantním napětím mezi prostřední a vzdálenější elektrodou.

## 7. Ortogonální provedení hmotnostního analyzátoru doby letu

Moderní vývoj analyzátoru TOF byl iniciován objevením MALDI ionizace a spojení s pulzními desorpčně-ionizačními metodami je pro tento hmotnostní analyzátor ideální kombinací. Není to však jediné možné využití. Přelom v možnostech analyzátoru TOF přišel se zavedením ortogonálního urychlení iontů (někdy také označován jako oaTOF nebo oTOF), které po původním vynálezu a spojení s MALDI představuje třetí pomyslný milník ve vývoji analyzátorů TOF (cit.<sup>18</sup>). Toto uspořádání umožňuje dávkovat ionty z kontinuálního iontového svazku kolmo (ortogonálně) na směr letu do hmotnostního analyzátoru TOF (jak do lineárního, tak i do iontového zrcadla). Protože analyzátor TOF poskytuje velkou rychlost a relativně dobrou citlivost a v provedení s iontovým zrcadlem i vysoké rozlišení, není překvapivé, že existovala snaha o konstrukční spojení s elektrosprejovou ionizací, případně dalšími ionizacemi při atmosférickém tlaku s přímým vstupem do hmotnostního spektrometru. Takové řešení totiž umožňuje přímé využití analyzátoru TOF pro on-line spojení s moderními separačními technikami. Hmotnostní

spektrometry s ortogonálním analyzátozem TOF jsou nyní komerčně k dispozici jak s elektrosprejovou ionizací (zejména pro spojení s kapalinovou chromatografií), tak i pro spojení s plynovou chromatografií, neboť pro ultrarychlé GC separace se často jedná o nejlepší možné technické řešení.

Časté je hybridní uspořádání, kdy je před analyzátozem TOF předřazen další analyzátozem, obvykle kvadrupól (případně iontová past). To umožňuje selekci prekurzorového iontu a provedení fragmentace v kolizní cele a získání tandemového hmotnostního spektra pomocí analyzátoru TOF. Základním prvkem ortogonálního analyzátoru TOF je urychlení ve směru kolmém na původní směr iontového paprsku. Část iontového paprsku o délce  $l$  je napětovým pulsem vyjmuta z původního směru a poslána ortogonálně směrem k analyzátozem TOF a následně urychlena napětím kolem 10 kV. Napětí je obvykle aplikováno ve dvou krocích pomocí dvou elektrod a konstrukce tak připomíná zpožděnou extrakci při spojení s desorpční ionizací. Iontová optika použitá k ortogonálnímu vyjmutí iontů z původního paprsku tedy v podstatě nahrazuje iontový zdroj ve spektrometrech s desorpční ionizací. Konstrukce samotného analyzátoru TOF – používá se téměř výhradně iontové zrcadlo – je shodná s výše popsanou konstrukcí analyzátozem pro spojení s desorpční ionizací.

V systému s ortogonálním analyzátozem TOF se pulzování dosahuje tak, že zatímco jedna skupina iontů prochází analyzátozem, další je stejným způsobem vydělena z původního paprsku a poslána ortogonálně směrem k analyzátozem. Jakmile jsou detegovány nejtěžší ionty, je další skupina iontů poslána k analýze. Při rozsahu hmotnostního spektra do  $m/z = 5000$  je obvyklá dávkovací frekvence kolem 100  $\mu$ s. Za jednu sekundu tedy dojde ke změření spekter 10 000 různých skupin iontů, které se sčítají do výsledných spekter, čímž se získá lepší poměr signálu k šumu. Ortogonální TOF hmotnostní spektrometry, zejména v hybridním uspořádání s předřazeným kvadrupólem (případně iontovou pastí) a elektrosprejovou ionizací, jsou tak populární, že je s jedinou výjimkou nabízí každá z globálních firem vyrábějících hmotnostní spektrometry.

## 8. Hmotnostní kalibrace

Obecně platí, že analyzátozem TOF vyžadují hmotnostní kalibraci mnohem častěji než Orbitrap nebo iontový cyklotron (a kalibrace by měla být zkontrolována před každým měřením) a jsou také mnohem náchylnější k posunům přesné hmoty v důsledku externích vlivů, jako je např. teplota. Základní kalibrační funkce analyzátoru TOF plyne z výše uvedených vztahů a je tedy kvadratická. Nicméně vyšší polynomy, jejichž použití souvisí s pulsní extrakcí a tvarem extrakčního napětového pulzu, jsou dnes používány k ještě větší přesnosti měření  $m/z$  a správně kalibrované analyzátozem TOF jsou dnes schopny v řadě aplikací zastoupit i analyzátozem s Fourierovou transformací a ultravysokým rozlišením.

## 9. Vliv vakua

Čím nižší je tlak v hmotnostním spektrometru, tím větší je střední volná dráha iontů a menší počet srážek. Srážky s reziduálními plyny mají obecně negativní vliv na rozlišení a hmotnostní analyzátory TOF fungují tím lépe, čím lepšího vakua je dosaženo. Srážky s reziduálními molekulami jsou, vedle úhlového rozptylu, také hlavním důvodem, proč není jednoduché dosáhnout lepšího rozlišení analyzátorů TOF pouze prodloužením letové dráhy, jak by se dalo dedukovat ze základních vztahů. Ve velmi dlouhých letových trubicích dokonce může dojít ke zhoršení rozlišení.

## 10. Spirálové, kruhové a další provedení hmotnostního analyzátoru s dobou letu

Jedná se o technické řešení, které umožňuje dosáhnout dlouhých letových drah v malých prostorech díky velkému počtu ohybů iontového paprsku (multiturn). Ty jsou jednak ergonomičtější a dále méně náročné na pumpování. Multiturn uspořádání analyzátorů TOF bylo poprvé popsáno koncem 80. let. V tomto provedení ionty procházejí místo lineární letovou trubicí nebo iontovým zrcadlem složitějším letovým systémem, který obsahuje ohýbací elektrody. Ionty je možné nechat postupovat ve spirálách ve tvaru číslice osm, nebo dokonce nechat obíhat v kruhu. Tyto postupy vedou k výraznému prodloužení letové dráhy a ke zlepšení rozlišení<sup>19</sup>.

### LITERATURA

- Stephens W. E.: Phys. Rev. 69, 691 (1946).
- Gohlke R. S., McLafferty F. W.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 4, 367 (1993).
- Karas M., Hillenkamp F.: Anal. Chem. 60, 2299 (1988).
- Guilhaus M., Mlynski V., Selby D.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 11, 951 (1997).
- Vestal M. L.: J. Mass Spectrom. 44, 303 (2009).
- Cotter R. J., Iltchenko S., Wang D., Gundry R.: J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. 53, 7 (2005).
- Chernushevich I., Loboda A., Thomson B.: J. Mass Spectrom. 36, 849 (2001).
- Vestal M. L., Campbell J. M.: Methods Enzymol. 402, 79 (2005).
- Guilhaus M., Mlynski V., Selby D.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 11, 951 (1997).
- Verentchikov A. N., Ens W., Standing K. G.: Anal. Chem. 66, 126 (1994).
- Radionova A., Filippov I., Derrick P. J.: Mass Spec. Rev. 35, 738 (2016).
- Weickhardt C., Moritz F., Grotemeyer J.: Mass Spectrom. Rev. 15, 139 (1997).
- Mamyrin B. A., Karataev V. I., Shmikk D. V., Zagulin V. A.: J. Exp. Theor. Phys. 64, 82 (1973)
- Mamyrin B. A.: Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. 131, 1 (1994).
- Wiley W. C., McClaren I. H.: Rev. Sci. Instrum. 26, 1150 (1955).
- Vestal M. L.: J. Mass Spectrom. 44, 303 (2009).
- Vestal M. L., Juhasz P., Martin S. A.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 9, 1044 (1995).
- Dawson J. H. J., Guilhaus M.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 3, 155 (1989).
- Su C.-S.: Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. 88, 21 (1989).

**M. Volný** (*Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Prague*): **Time-of-flight Mass Analyzer**

The paper presents a brief overview of the time-of-flight mass analyzer and its implementation in mass spectrometry. Fundamental concepts, properties and equations are explained. Various configurations of time-of-flight analyzer are described, including the linear arrangement, reflector and orthogonal time-of-flight. Delayed extraction and its influence on resolution improvement is explained. The text also mentions metastable ions, influence of the vacuum, mass calibration and some alternative concepts in time-of-flight mass spectrometry.

Keywords: mass spectrometry, time-of-flight analyzer, TOF, reflectron, delayed extraction, orthogonal TOF, calibration