

MALDI-TOF masa-espektrometriaren erabilera polimeroak ezaugarritzeko

The use of MALDI-TOF mass spectrometry for polymers characterization

Antonio Veloso^{*1,2}, Rebeca Sola-Llano¹

¹ Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU

² POLYMAT, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU

LABURPENA: Gaur egun, materialak ezaugarritzeko erabiltzen diren teknikek informazio dezente uzten dute agerian, baina oraindik nahiko zaila da egiturari buruzko informazio osatua lortzea. Informazio hau garrantzi handikoa eta beharrezkoa da modu sakon batean polimero horietatik eratorritako materialen propietateak ezagutzeko. Polimeroak karakterizatzeko, Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI/TOF MS) sortu zenetik, gero eta gehiago hedatu da teknika honen erabilera arlo desberdinetan.

Masa-espektrometria teknika hau hedatu egin da polimeroen karakterizazioan, masa molarraren banaketaz gain, polimeroen unitate monomerikoa, polisakabanatzea eta kateen muturrak ezagutzea lor daitekeelako, hain zuzen ere.

Lan honetan MALDI/TOF teknikaren oinarriak labur azalduko dira: masa espektrometroak nola funtzionatzen duen, zein den matrizearen garrantzia, zeintzuk diren matrize ohikoak... Eta zenbait polimeroen karakterizazio adibideak aztertuko dira. Zehazki, bi karakterizazio-prozedura erakutsiko dira: Gel Permeation Chromatography (GPC) teknikan estandarizat erabiltzen den poliestireno homopolimeroa eta Latemul, emulsionatzaile polimerizagarri komertzial moduan erabiltzen den kopolimeroa.

HITZ GAKOAK: MALDI, masa-espektrometria, polimeroak.

ABSTRACT: Nowadays, techniques used for materials characterization provide a lot of information, but it is difficult to obtain complete information about structure. This information is very important and it is required to know more about the obtained material properties by these polymers. For polymers characterization, since Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI/TOF MS) was developed, the use of this technique in different fields has increased exponentially.

This mass spectrometry technique has spread for polymers characterization and, besides molar mass distribution, polymer monomeric units, polydispersity and end-groups can also be obtained.

In this work, MALDI/TOF fundamentals are briefly explained: how mass spectrometer works, what is the importance of the matrix, which are the typical matrices... And some polymer characterization illustrative examples will be presented. Specifically, two characterization processes will be shown: polystyrene homopolymer used as a standard in Gel Permeation Chromatography (GPC) technique and Latemul, a commercial copolymer used as polymerizable emulsifier.

KEYWORDS: MALDI, mass spectrometry, polymers.

*** Harremanetan jartzeko / Corresponding author:** Antonio Veloso. Kimika Fisika Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea (ZTF), Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Sarriena Auzoa, z/g, 48940, Leioa, Bizkaia, Espainia. – antonio.veloso@ehu.eus – https://orcid.org/0000-0003-1309-2373.

Nola aipatu / How to cite: Veloso, Antonio; Sola-Llano, Rebeca (2019). «MALDI-TOF masa-espektrometriaren erabilera polimeroak ezaugarritzeko»; *Ekaia*, 35, 2019, 185-196. (https://doi.org/10.1387/ekaia.19691).

Jasoa: 15 maiatza, 2018; Onartua: 18 iraila, 2018.

ISSN 0214-9001 - eISSN 2444-3255 / © 2019 UPV/EHU



Obra hau Creative Commons Atribución 4.0 Internacional-en lizentziapean dago

1. SARRERA

Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI/TOF MS) edo laserraren bidezko desortzio-ionizazio matrizez lagundua/hegaldi-denbora masa-espektrometria 1980ko hamarkadan sortu zen Tanaka [1], Karas eta Hillenkamp-en [2] laborategietan. 1991n masa espektrometroak komertzialki erabilgarri izaten hasi ziren. Teknika honekin laginak era bigun batean ioniza daitezke, hau da, lagin osoa detekta daiteke zatiketarik gertatu gabe, eta laginean dauden konposatuen edo substantzien masa desberdinak espektro batean biltzen dira. Proteinen arloan ikerkuntzak egiten hasi ziren, proteinen hatz-aztarna lor daitekeelako, bai eta sekuentziatu ere, peptidoen aminoazido-sekuentziaren bitartez proteinaren identifikazioa eginez. Denboraren poderioz, teknika hau beste arlo batzuetan hedatu da, metabolomikan edo lipidomikan, esate baterako. Aldi berean, polimeroak detektatzeko eta hauen masa molarren banaketa aztertzeke erabili ohi da [3-12], karga bateko espezieak bakarrik sortzen direlako eta espektroak erraz interpreta daitezkeelako. Beste masa-espektrometria teknikekin alderatuz metodo honek dituen abantaila nagusiak hauek dira:

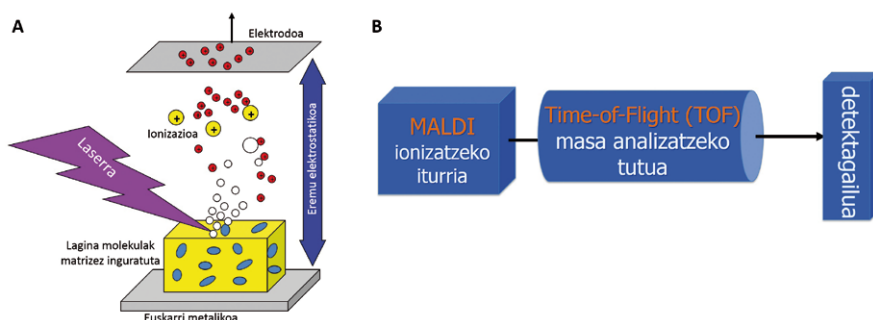
- i) Masa handiko polimeroak neurtu daitezke zatiketarik gabe [13], hau da, molekula osoa detektatzen da.
- ii) Gailurren bereizmen ona izanez gero, hots, estua denean, mutur taldeen konposizioa, monomeroa(k) eta hauen kopurua ezagut daitezke [14-16].
- iii) 20 kDa (20.000 Da) baino baxuagoko masak aztertzeke, masa-absolute teknika da.

Artikulu honetan MALDI/TOF masa-espektrometria erabiliz polimeroak nola ezaugarritzen diren erakutsiko da. Horretarako, lehendabizi teknika hau zertan datzan azalduko da laburki. Ondoren, polimeroen karakterizazioa gauzatuko da. Kontuan hartu behar da polimeroak bi talde nagusitan banatzen direla: homopolimeroak eta kopolimeroak. Lehenengoak, monomero bakar batez osatuta daude; bigarrenak, aldiz, monomero unitate bat baino gehiagoz. Horregatik, bi azalpen hauek atal desberdinetan banatu dira. Azkenik, azalduko da teknika hau erabiltzeko zein den polimeroen polisakabanatzearen garrantzia.

2. MALDI/TOF MASA-ESPEKTROMETRIA

MALDI/TOF espektrometroak laser bat erabiltzen du laginak ionizazio-kutxan ionizatzeko (1. irudia A). Normalean, laser erabilgarrienak laser ultramoreak (UV) dira, oso erraz erabiltzen direlako eta prezio baxua

daukatelako. Hauen artean, nitrogeno ($\lambda = 337$ nm) eta Nd:YAG laserrak ($\lambda = 266$ eta 355 nm) dira ohikoenak. Laserra laginarekin kontaktuan jartzen denean, ioiak sortzen dira eta hauek, aplikatzen den eremu elektriko baten eraginez, TOF tuturaino azeleratzen dira. TOF tutuan analisi-fasea gertatzen da. Hango hutsune altua dela eta, pisu txikiko ioiek energia zinetiko handiagoa izango dute; beraz, pisu handiko ioiak baino lehenago iritsiko dira detektagailura (1. irudia B).



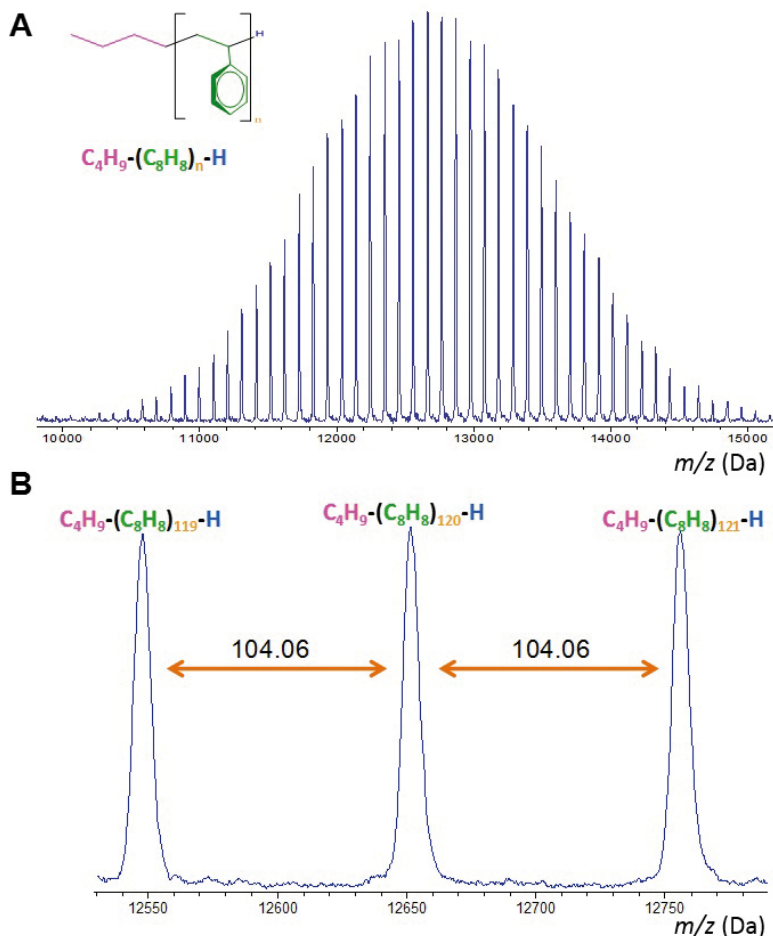
1. irudia. MALDI/TOF masa espektrometroaren eskema. (A) Ionizazio-urratsa. (B) Prozesu orokorra.

Espektrometro barruan lagina sartu aurretik, laginaren prestaketa egin behar da. Horretarako, lagina, matritzea eta gatzaren kantitate egokiak disolbatu behar dira disolbatzaile bateragarri batean, eta gero analito/matritze/gatz erlazio molar egokian nahasi behar dira. Beraz, oso garrantzitsua da matritze eta gatz egokiak aukeratzea. Matritzeari esker, MALDI n erabiltzen den laserra berarekin kontaktuan jartzen denean, laserraren energia gehiena matritzeak xurgatzen du, eta ioi osoak detekta daitezke zatiketarik gertatu gabe. Bestalde, gatzak ioi aduktuak sortzeko erabiltzen da eta, aldi berean, laginen molekulen ionizazioak erraztu egiten ditu [17]. Matritze ohikoenak molekula organiko aromatikoa izaten dira; adibidez, hauek: azido 2,5-dihidroxibenzoikoa (DHB), azido α -ziano-4-hidroxi zinnamikoa (CHCA) edo trans-2-[3-(4-tert-Butilfenil)-2-metil-2-propenilideno]malonitriloa (DCTB). Erabiltzen diren gatzak sodio, potasio edo zilarrenak izaten dira, sodio ioduroa (NaI) edo zilar trifluoroazetatoa (AgTFA), esate baterako.

3. HOMOPOLIMEROEN KARAKTERIZAZIOA

Erabilitako homopolimeroa poliestireno (PS) estandarra da, 13100 Da masa molarrekoa, *Gel Permeation Chromatography*-an (GPC) estandar be-

zala erabiltzen den poliestireno homopolimeroa hain zuzen (Varian). Polimerizazio anionikoaren bidez sintetizatzen da; teknika honen bidez, masa molar banaketa estuko polimeroak lortzen dira. Polimerizazioan litio n-butiloa erabiltzen da hasarazle bezala, eta alkohol bat erabiltzen da transeferentzia-agente bezala polimero kateen hazkuntzari amaiera emateko.



2. irudia. 13100 Da masa molarreko PS-aren MALDI/TOF espektroa. (A) Espektro osoa 10000-15000 Da masa artean. (B) Handipena 12540-12800 Da masa artean. Egitura eta formula molekular orokorra ere erakusten dira, eta handipenean gailur bakoitzari dagokion formula molekularra adierazten da.

Kasu honetan, matrize-gatz sistema moduan, DCTB matrizea eta AgTFA gatz erabili ziren. Gatz hau aukeratu da, zilarrak eta lotura bikoi-tzak elkarri eragiten diotelako eta, horrela, laserrarekin ionizatzerakoan aduktuak errazago sortzen direlako. Kontuan hartu behar da estirenoak (St) bere monomero egituran heteroatomorik ez duela (2. irudia A), eta espektroan lortzen den intentsitatea hobetzeko beharrezkoa dela ionizazioan aduktu hauek sortzea.

MALDI espektroa aztertuz, PS 13100 Da, $C_4H_9-(C_8H_8)_n-H$ egiturari lotuta dago (2. irudia A), hau da, mutur taldeak C_4H_9 eta H dira eta monomero mota bakarrez osaturik dago, estirenoa (St, C_8H_8). Monomero-unitateen kopurua n letraren bidez adierazten da.

Espektroaren gailur bakoitzaren posizioa (1) ekuazioak auresaten du, monomero kopuru desberdina n_{St} letraren bidez adierazten da, eta, AgTFA gatz erabilienez, espektroan agertzen den gailur bakoitzaren masa zilarra aduktua sortuz detektatzen da, horregatik M_{Ag} agertzen da ekuazioan.

$$(m/z)_{kal} = n_{St}M_{St} + M_H + M_{Butiloa} + M_{aduktoa (Ag)} \quad (1)$$

Non $(m/z)_{kal}$ den gailur bakoitzarentzat kalkulaturako balioa; n , monomero kantitatea; M , masa molekularra; eta St, estirenoa. Kalkuluak egiteko erabili diren masa molekularrak hauek dira: $M_{St} = 104,06$, $M_H = 1,007$, $M_{Butiloa} = 57,07$ eta $M_{Ag} = 106,90$ Da.

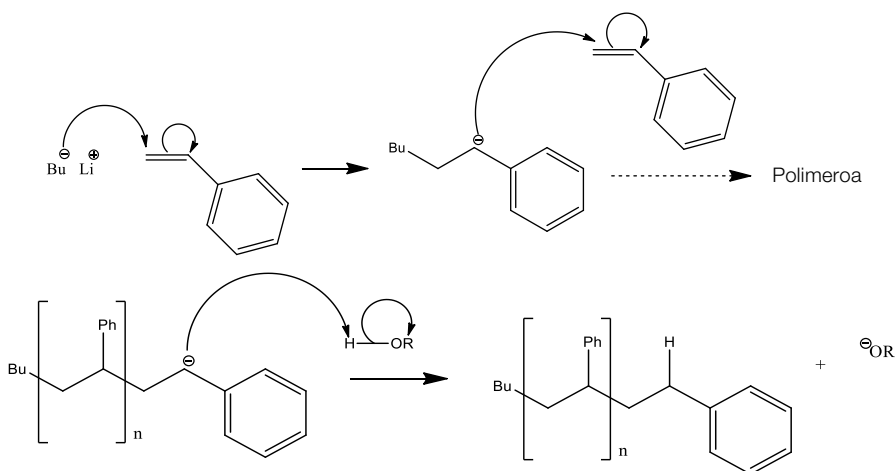
Azkenik, MALDI eta PS fitxa teknikoan agertzen diren datuak aldaratuta, oso antzeko balioak lortzen dira (1. taula), zeren eta adostasuna baitago monomeroaren unitatean, masa molarren banaketan (M_w eta M_n) eta polisakabanatzean. Beste alde batetik, fitxa teknikoaren arabera, PS sintesi erreakzio honetan sortzen diren mutur taldeak n -butiloa eta metiloa dira, baina MALDIren emaitzetan ikusten da nola metiloa izan beharrean, hidrogeno atomo bakar batez osaturik dagoen.

1. taula. PS-ren analisisen konparaketa: MALDI/TOF teknika eta hornitzailearen fitxa teknikoa erabilia.

St-13100	MALDI analisia	Hornitzailearen analisia
Monomeroa	Estirenoa	Estirenoa
M_n	12740,4	12600
M_w	12792,7	12900
\bar{D}	1,004	1,03
Mutur taldeak	n -butiloa eta hidrogenoa	n -butiloa eta metiloa

M_w , masa molarra pisuan; M_n , masa molarra zenbakian; eta \bar{D} , polisakabanatzea.

Erreakzioaren mekanismoa aztertzen badugu (3. irudia), erraz ikus dezakegu nola MALDIn lortutako emaitzak zentzu handiagoa daukan. Lehendabizi, litio n-butiloaren butilo anioiak estireno monomeroaren lotura bikoitzari eraso egiten dio, lotura bakun bat sortuz. Lotura hau sortzen denean, anioi berri bat sortzen da, eta honek beste estireno baten lotura bikoitzarekin erreakzionatzeko aukera dauka, eta abar. Horrela, PS polimeroa sortzen da. Erreakzioa amaitzeko edo polimero kateen hazkuntzari amaiera emateko, alkohol bat erabiltzen da transferentzia-agentez, eta hidrogeno atomo bat gehitzen da kate bukaeran. Beraz, MALDIn lortutako mutur taldea zentzuzkoa da, eta ez fitxa teknikoan adierazten dena.

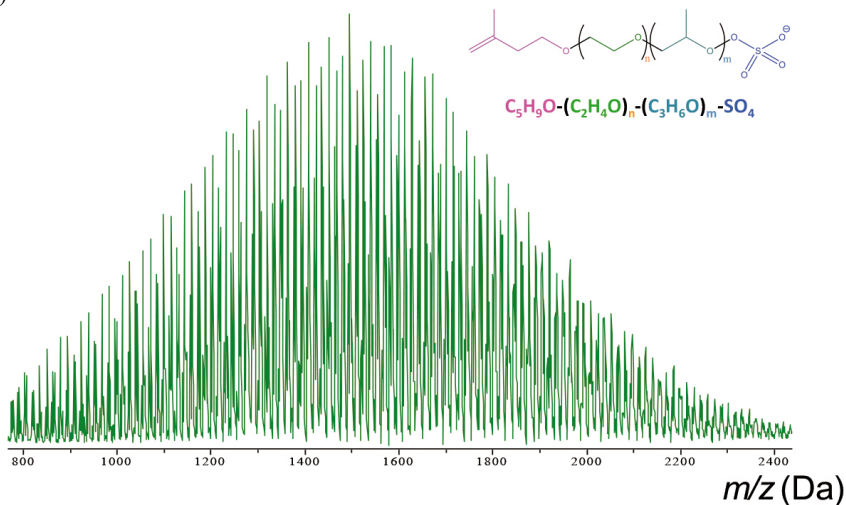


3. irudia. PS sintetizatzeko polimerizazio anioniko erreakzioaren eskema.

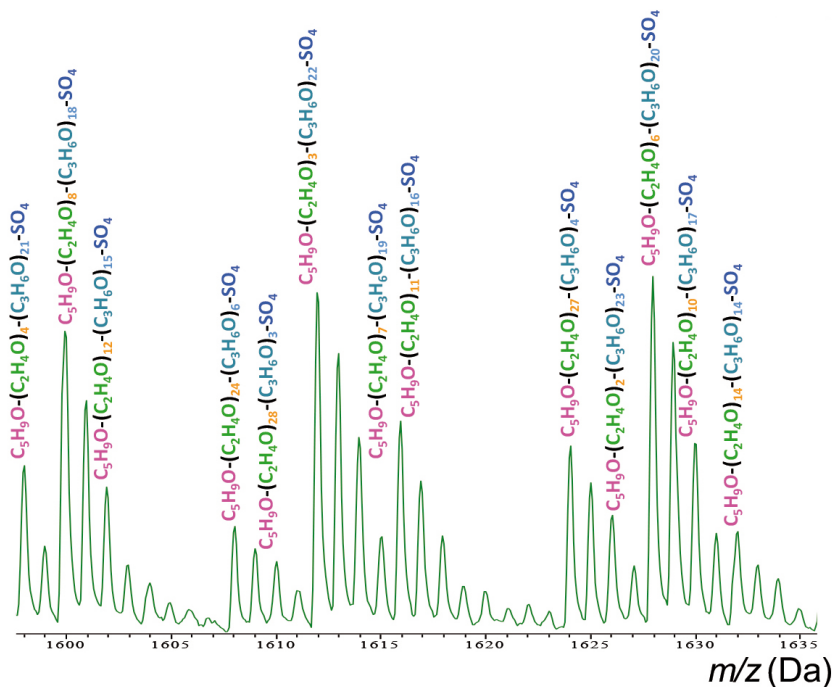
4. KOPOLIMEROEN KARAKTERIZAZIOA

Latemul PD-104 kopolimero komertziala (Kao Chemicals) emulsio-natzaile polimerizagarri (lotura bikoitza du bere egituran eta ondorioz monomeroekin erreakziona dezake) moduan erabiltzen da emulsio-polimerizazioetan. Honen egitura ezagutzea premiazkoa da, emulsio-polimerizazioetan partikulen egonkortasun koloidalean duen eraginagatik. Normalean industriak ez du datu gehiago errazten, eta zaila izaten da konposatu osoa ezaugarritzea.

A)



B)



4. irudia. Latemul PD-104 kopolimeroaren MALDI/TOF masa espektroa (1675 Da). (A) Espektro osoa 800-2400 Da masa artean. (B) Handipena 1595-1635 Da masa artean. Gailur desberdinei dagozkien formula molekularrak eta egi-tura orokorra (goian) adierazten dira.

Kasu honetan, matrize-gatz sistema moduan, DCTB matrizea eta NaI gatzeta erabili ziren. MALDI espektroa aztertuz polimero honen egitura zehazta ezagutu dezakegu. Latemul PD-104k $C_5H_9O-(C_2H_4O)_n-(C_3H_6O)_m-SO_4$ egitura dauka (4. irudia A), hau da, mutur taldeak C_5H_9O eta SO_4 dira, eta bi monomero desberdin dauzka: etilenglikola (EG, C_2H_4O) eta propilenglikola (PG, C_3H_6O). Monomero bakoitzaren kopurua n eta m letraz seinatzen da. Espektroaren gailur bakoitzaren posizioa (2) ekuazioaren bidez aurreratu da, zeinetan monomero-unitateen kopuru aldakorrak agertzen diren (n_{EG} eta n_{PG} letraren bidez adierazita). Kasu honetan, NaI erabili da gatz moduan eta espektroan agertzen den gailur bakoitza sodioa aduktuarekin batera detektatu da; beraz, kontuan hartu behar da M_{Na} ekuazioan.

$$(m/z)_{kal} = n_{EG}M_{EG} + n_{PG}M_{PG} + M_{SO_4} + M_{C_5H_9O} + M_{aduktoa (Na)}. \quad (2)$$

Non $(m/z)_{kal}$ den gailur bakoitzarentzat kalkulaturako balioa; n , monomero-unitateen kopurua; M , masa molekularra; EG, etilenglikola; PG, propilenglikola. Kalkuluak egiteko erabili diren masa molekularrak hauek dira: $M_{EG} = 44,03$, $M_{PG} = 58,04$, $M_{C_5H_9O} = 85,06$, $M_{SO_4} = 95,95$ eta $M_{Na} = 22,99$ Da.

Azkenik, MALDI eta fitxa teknikoan agertzen diren GPCren datuak aldaratu dira (2. taula). Masa molarren banaketan M_n balioa berdina da, baina M_w -ek balio ezberdina daukate; hori dela eta, polisakabanatzearen balioa ere asko aldatzen da. Kontuan izan behar da GPC-ez lortutako masa molarrek poliestireno estandarretan oinarritutako kalibratu bitartez lortu direla, eta, beraz, balioak ez direla absolutuak. Hau kontuan izanik, emaitzak bat datozela esan daiteke.

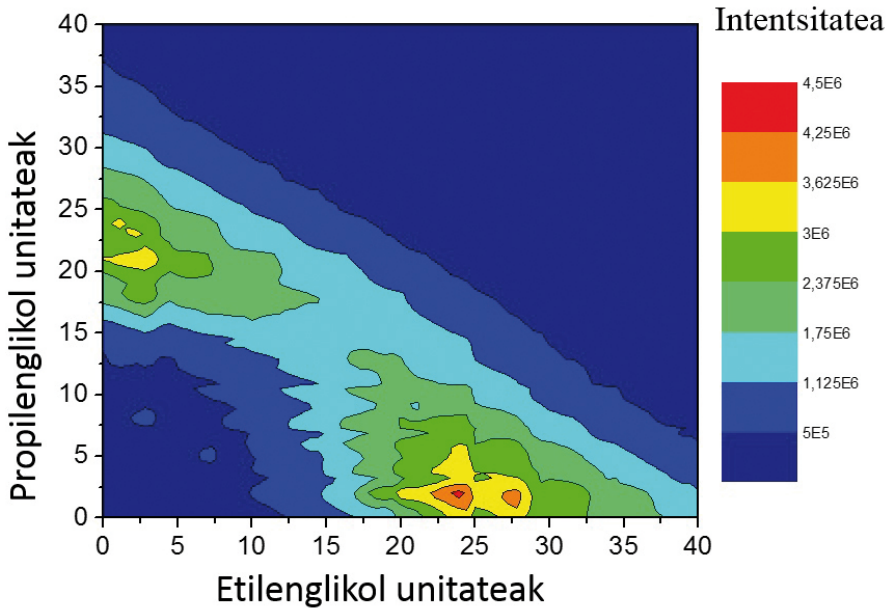
2. taula. Latemul PD-104 analisisien konparaketa: MALDI/TOF teknika eta hornitzailearen datuak GPC erabilita.

Latemul PD-104	MALDI analisisia	Hornitzailearen analisisia
Monomeroak	Etilenglikola eta propilenglikola	—
M_n	1675,4	1674
M_w	1756,5	2527
\bar{D}	1,048	1,51
Mutur taldeak	C_5H_9O sulfatoa	—

M_w , masa molarra pisuan; M_n , masa molarra zenbakitan; eta \bar{D} , polisakabanatzea.

Gainera, kopolimeroen MALDI espektroetan gailur guztiak karakterizatuta daudenean, 2D-diagramak irudika ditzakegu, non erraz ikusten den zein den kopolimeroaren egitura. 5. irudian Latemul PD-104-ren 2D-diagrama erakusten da. X eta Y ardatzetan, etilenglikol eta propilenglikol uni-

tate kopuruak adierazten dira, hurrenez hurren. Eskuinaldean, kolore-eskala bat erabiliz espektroko gailur bakoitzaren intentsitatea bereiz daiteke. Horrela, kolore gorriak espektroan gailur intentsoa dagoela adierazten du, eta kolore urdinak, ordea, espektroan gailurrik ez dagoela esan nahi du. Irudiari erreparatzen badiogu, argi ikus genezake Latemul PD-104-n bi banaketa ikusten direla: garrantzitsuenak 22-25 EG unitate eta 2-4 PG unitate ditu; eta bigarrenak 20-22 PG unitate eta 1-5 EG unitate ditu.

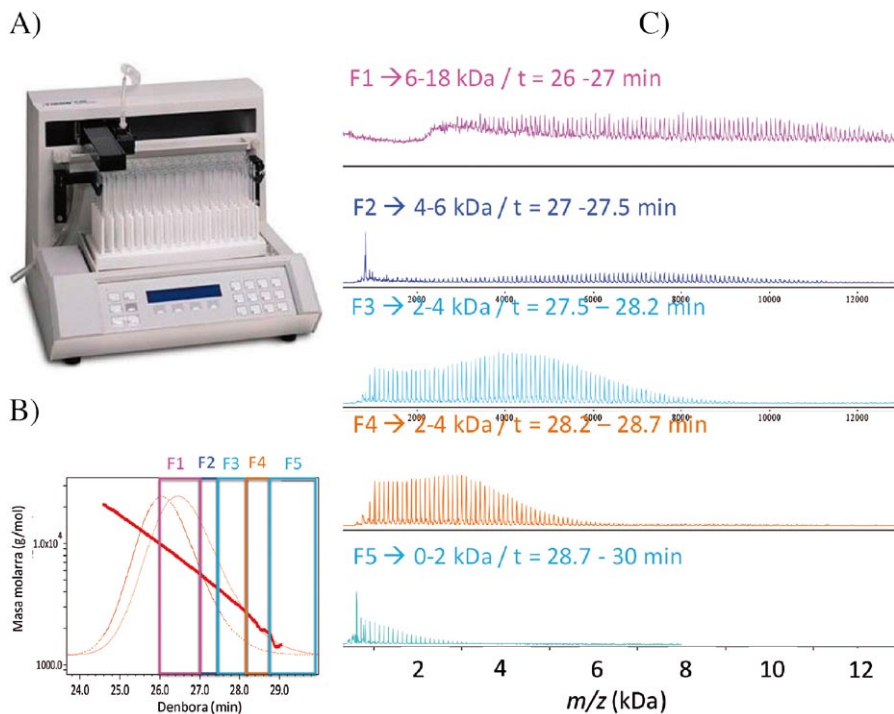


5. irudia. Latemul PD-104-ren MALDI espektroaren emaitzetan oinarritutako 2D-diagrama. Gailurren intentsitatea kolore-eskalaren bidez adierazten da.

5. POLISAKABANATZEAREN GARRANTZIA MALDI ANALISIAN

Polimeroek ez daukate, beste konposatuek bezala, masa bakarra, masa molekular desberdinez osatzen dira, hau da, masa banaketa daukate. Polisakabanatzeak (Đ) banaketa horren aldaketa adierazten du. MALDI teknikan hobeto detektatzen dira pisu txikiko molekulak pisu handikoak baino: pisu txikikoek errazago hegan egiten dute eta detektatzen iritsi; horregatik, oso polisakabanatze (Đ) handiko polimeroak txarto detektatzen dira, eta ez dituzte emaitza zehatzak ematen. Polisakabanatzearen arazo honi konponbidea emateko, GPC kromatografia erabiltzen da. Horrela, GPC-n polimeroaren lagina ziztatzen da, eta zutabean polimeroa-

ren banaketa ematen da. Polimeroaren kate luzeenek, hau da, pisu handikoenek, denbora gutxiago behar dute zutabea zeharkatzeko kate motzenek edota pisu baxukoenek baino. Modu honetan, GPC-ri frakzio-biltzailea (6. irudia A) akoplatzeko aukera dago, eta honek ahalbidetzen du denbora tarte desberdinetan polimero laginaren frakzioak jasotzea (6. irudia B); beraz, hasierako polimeroaren banaketa bat lortzen da, eta, era berean, polimeroaren frakzio bakoitzak δ txikiagoa izango du. 6. irudia B-n δ handiko polimero baten GPC kromatograma erakusten da. Frakzio-biltzailea erabiliz jasotako frakzio bakoitza (F1-F5) kolore desberdineko lauki baten bidez adierazi da. Horrela, kasu zehatz honetan lagina bost frakzio desberdinetan banatu da. Frakzio bakoitza MALDI espektrometroan sartu eta argi ikusten da hauen espektroan nola lehenengo frakzioak (F1), denbora gutxiago behar duenak zutabetik ateratzeko (26-27 minutu), masa handiko polimeroak erakusten dituen 6-18 kDa masa artean. Bestalde, bosgarren frakzioa (F5), hasierako laginetik lortutako azken frakzioa da (28,7-30 minutu), eta honen espektroan masa txikiko polimeroak daude 0-2 kDa.



6. irudia. (A) Frakzio-biltzailearen argazkia. (B) δ handiko polimero baten GPC kromatograma. (C) GPC eta frakzio-biltzailea erabiliz lortutako 5 frakzioen MALDI espektroak. Jasotako frakzio bakoitza (F1-F5) GPC-n kolore desberdineko lauki baten bidez adierazten da eta kolore bera mantentzen da frakzio horren espektroan.

6. ONDORIOAK

Materialak ezaugarritzeko erabiltzen diren teknikek informazio dezentente uzten dute agerian, baina oraindik nahiko zaila da egiturari buruzko informazio osatua lortzea. Masa-espektrometria teknika hau erabiliz, polimeroen garrantzi handikoa eta beharrezkoa den informazioa lor dezakegu modu sakon batean ezagutzeko polimeroen mikroegitura eta polimero horietatik eratorritako materialen propietateak. Masa molarraren banaketaz gain, polimeroen unitate monomerikoa, polisakabanatzea eta kateen muturrak ezagutzea ere lor daiteke, hain zuzen ere. Hori dela eta, teknika hau gero eta gehiago hedatzen ari da polimeroen propietateak hobeto aztertzeko.

7. ESKER ONAK

Lan honek UPV/EHUren, Gipuzkoako Foru Aldundiaren, Eusko Jaur-larritza eta Basque Center for Macromolecular Design and Engineering-en (POLYMAT-BERC) ikerketa-proiektuen diru-laguntza izan du.

8. BIBLIOGRAFIA

- [1] TANAKA K., WAKI H., IDO Y., AKITA S., YOSHIDA Y. AND YOSHIDA T. 1988. «Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry» *Rapid Com. Mass Spectr.*, **2**, 151-153.
- [2] KARAS M. & HILLENKAMP F. 1988. «Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons» *Analytical Chemistry*, **60**, 2299-2301.
- [3] BAHR U., DEPPE A., KARAS M., HILLENKAMP F., GIESSMANN U. 1992. «Mass spectrometry of synthetic polymers by UV-matrix-assisted laser desorption/ionization». *Anal. Chem.*, **64**, 2866-2869.
- [4] DANIS P.O., KARR D.E., MAYER F., HOLLE A., WATSON C.H. 1992. «The analysis of water-soluble polymers by matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry» *Org. Mass Spectrom.*, **27**, 843-846.
- [5] DANIS P. O., KARR D. E. 1993. «A facile sample preparation for the analysis of synthetic organic polymers by matrix-assisted laser desorption/ionization» *Organic Mass Spectrometry*, **28**, 923-925.
- [6] EGGERT M., FREITAG R. 1994. «Poly-N, N-diethylacrylamide prepared by group transfer polymerization: Synthesis, characterization, and solution properties» *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **32**, 803-813.
- [7] FREITAG R., BATES T., EGGERT, M. 1994. «A comparison of thermo-reactive water-soluble poly-N,N-diethylacrylamide prepared by anionic and

- by group transfer polymerization » *J. Poly. Sci., Polym. Chem.*, **32**, 3019-3030.
- [8] MONTAUDO G., MONTAUDO M.S., PUGLISI C., SAMPERI F. 1994. «2-(4-hydroxyphenylazo)-benzoic acid: A solid matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization of polystyrene » *Rapid Com. Mass Spect.*, **8**, 1011-1015.
- [9] MONTAUDO G.; MONTAUDO M.S., PUGLISI C., SAMPERI F. 1995. «Characterization of Polymers by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. End Group Determination and Molecular Weight Estimates in Poly(ethylene glycols)» *Macromolecules*, **28**, 4562-4569.
- [10] BURGER H.M., MULLER, H.M., SEEBACH D., BORNSSEN K.O., SCHAN M., WIDMER H.M. 1993. «Matrix-assisted laser desorption and ionization as a mass spectrometric tool for the analysis of poly[(R)-3-hydroxybutanoates]. Comparison with gel permeation chromatography» *Macromolecules*, **26**, 4783-4790.
- [11] MONTAUDO G., MONTAUDO M.S., PUGLISI C., SAMPERI F. 1994. «Self-calibrating property of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight spectra of polymeric materials » *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **8**, 981-984.
- [12] DANIS P. O., KARR D. E., Simonsick W. J., Wu D. T. 1995. «Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Characterization of Poly(butyl methacrylate) Synthesized by Group-Transfer Polymerization» *Macromolecules*, **28**, 1229-1232.
- [13] SCHRIEMER D.C. & LI L. 1996. «Detection of High Molecular Weight Narrow Polydisperse Polymers up to 1.5 Million Daltons by MALDI Mass Spectrometry» *Analytical Chemistry*, **68**, 2721-2725.
- [14] PASCH H., UNVERICHT R., RESCH M. 1993. «Analysis of epoxy resins by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry» *Angewandte Macromolecules Chemistry*, **212**, 191-200.
- [15] SCHÄDLER V., SPICKERMANN J., RÄDER J., WIESNER U. 1996. «Synthesis and characterization of α , ω -macrozwitterionic block copolymers of styrene and isoprene» *Macromolecules*, **29**, 4865-4870.
- [16] SPICKERMANN J., RÄDER H.J., MÜLLEN K., MÜLLER B., GERLE M., FISCHER K., SCHMIDT M. 1996. «MALDI-TOF characterization of macromonomers» *Macromolecules Rapid Communications*, **17**, 885-896.
- [17] VELOSO A. 2017. «MALDI-TOF masa espektrometria ezagutzen.» *Ekaia*, **32**, 83-96.