

고분자 및 나노 복합물질의 3차원 구조분석

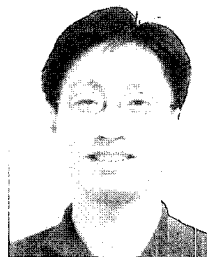
이현정 · 이원목 · 윤종승

1. 서론

고분자물질 내 상분리 구조나, 마이크로/나노 패턴 구조를 분석하는 연구는 지난 수십년에 걸쳐 매우 중요한 문제로 대두되어 왔다. 또한 고분자 매질과 탄소나노튜브, 다양한 마이크로/나노 무기입자들을 복합화한 나노 복합물질 내에 그들의 분산 및 방향성은 전체 물성에 매우 큰 영향을 미치게 된다. 이러한 새로운 물질을 개발하는 끊임없는 산업적 수요뿐만 아니라 복잡한 자연현상을 이해하고자 하는 학술적 관심은 구조 분석 연구의 중요성을 말해준다.

지금까지 다성분 고분자 물질의 모폴로지 연구에서 여러가지 현미경 또는 산란 실험법이 마이크로/나노미터 길이의 나노 구조를 관찰하는데 핵심적인 역할을 하였다. 현미경 분석법의 경우, 일반 광학현미경에서부

터 AFM(atomic force microscopy), TEM(transmission electron microscopy), SEM(scanning electron microscopy)에 의한 구조분석기기는 상업적으로도 다양한 구조의 기기 구입이 가능하며, 고분자를 다루는 연구팀에서 필수적인 분석기기 장비들이다. 광학 또는 전자 현미경을 활용하는데 있어 가장 큰 장점은 실



이원목

1995 포항공과대학교 화학과(학사)
1997 포항공과대학교 화학과(석사)
2001 포항공과대학교 화학과(박사)
2001~2003 Univ. of Illinois at Urbana-Champaign (Post Doc.)
2003~2005 MIT (Post Doc.)
2005~ 현재 삼성종합기술원(전문연구원)



이현정

1995 포항공과대학교 화학과(학사)
1997 포항공과대학교 화학과(석사)
2001 포항공과대학교 화학과(박사)
2001~2003 Univ. of Illinois at Urbana-Champaign (Post Doc.)
2003~2004 MIT (Post Doc.)
2004~ 현재 한국과학기술연구원(선임연구원)



윤종승

1992~1996 서울대학교 섬유고분자공학과(학사)
2000~2006 M. I. T. 재료공학과(박사)

3D structural analysis of polymeric and nanocomposite materials

한국과학기술연구원 고분자하이브리드센터 (Hyunjeung Lee, Polymer Hybrids Research Center, Korea Institute of Science and Technology, 39-1, Hawolgok-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-791, Korea)

e-mail: lhj0630@kist.re.kr

삼성종합기술원 (Wonmok Lee, Energy Lab., Samsung Advanced Institute of Technology, P.O. Box 111, Suwon 449-712, Korea) e-mail: wonmok.lee@samsung.com

MIT 재료공학과 (Jongseung Yoon, Department of Materials Science and Engineering, Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Ave., Room 13-5095, Cambridge, Massachusetts 02139, USA)

e-mail: jsyoon@mit.edu

제 이미지를 보임으로써 모폴로지의 공간적 실상 표현 (real-space representation)이 가능하다는 점이다. AFM 역시 나노구조 표면 토포그래피(높이 이미지: height image)뿐 아니라 서로 다른 상의 표면 불균일 (상이미지: phase image) 연구에 아주 유용한 분석기 기이다.^{1,2} 최근 들어 NSOM(near field optical microscopy) 역시 고분자 미세구조의 광학적 이미지 연구에 시도된다.³ 그러나 이러한 방법들은 근본적으로 오직 이차원적인 정보만을 제공할 뿐이다. 또한, 정량적인 크기 측정 면에서 본다면, 현미경방법은 매우 국부적으로 제한된 구조적 정보를 제공할 뿐이다.

반면에 산란법은(일반적으로 현미경으로 보는 면적 보다 훨씬 큰) 산란부피에 대해 통계적으로 평균된 구조적 정보를 제공한다.^{4,5} 하지만, 이러한 평균적 정보가 정확하더라도, 산란법은 직접적으로 모폴로지에 대한 영감을 주지는 않는다. 일반적으로 산란법은 구조적 변수를 얻기 위해 미리 모폴로지에 대한 사전 정보가 필요하다. 즉, 모폴로지의 완벽한 분석을 위해서는 현미경으로 먼저 보고, 그 정보 위에서 산란에 의한 구조적 변수들을 통계적으로 계산하게 된다. 이렇게 두 방법은 서로 상호보완적인 개념으로 활용된다.

모폴로지의 크기에 따라 마이크로 사이즈의 모폴로지에는 광산란과 광학현미경이, 나노미터크기의 구조에는 소각 증성자(또는 엑스레이) 산란법이 TEM(또는 SEM, AFM)과 같이 쓰여 왔다. **그림 1**은 여러 가지 종류의 현미경과 산란방법의 공간적 분해능을 나타낸 것이다.⁶

이러한 관습적인 분석 과정에서 대면할 수 있는 가장 큰 문제중의 하나는 현미경에 의해 복잡한 구조를 구

명하는 것만으로 결론을 내리기 어렵고 산란데이터의 해석은 직접적이지 않다는 점이다. 지금까지 사용된 현미경은 3차원 구조물에서 반사된 또는 투과된 이차원 이미지만을 취할 수 있었다. 모폴로지가 더 복잡해질수록, 이차원 이미지를 이용한 분석은 점점 정확성이 떨어질 수 있다. 이로 인해 3차원 이미지를 얻을 수 있는 현미경 개발의 요구가 있어왔다. 3차원 현미경 방법론은 3D-scscopy, 또는 3D microscopy 라고 한다. 지난 십수년 간 몇 가지 타입의 3차원 현미경이 개발되어 왔고, 실제로 의학분야에서는 오래전부터 활용되어져 왔다. 3차원 현미경 방법에서는 디지털 이미지 분석과정이 수반되며, 공간 데이터로부터 보다 정밀하고, 때로는 새로운 구조적 정보를 얻을 수 있게 된다.

본 총설에서는 복잡한 고분자 구조 및 나노 복합물질의 내부구조를 관찰, 분석하는데 있어 3차원 구조 분석법이 기존의 방법에 비해 얼마나 우수한 장점을 가지고 있는지를 보여줄 것이다. 특히 최근에 활발하게 이루어지고 있는 컨포컬 현미경(confocal microscopy)과 TEMT(TEM tomography)에 의한 고분자 물질의 3차원 구조분석 연구 예를 다룰 것이다.

2. TEMT

TEM은 거의 원자수준에 가까운 우수한 이미지 분해능으로 자기조립 블록 공중합체의 2차원 구조 분석에 매우 많이 쓰이고 있다.⁷ TEMT는 나노미터 크기의 분해능을 가진 3D 구조 이미지 분석기기이다.⁸

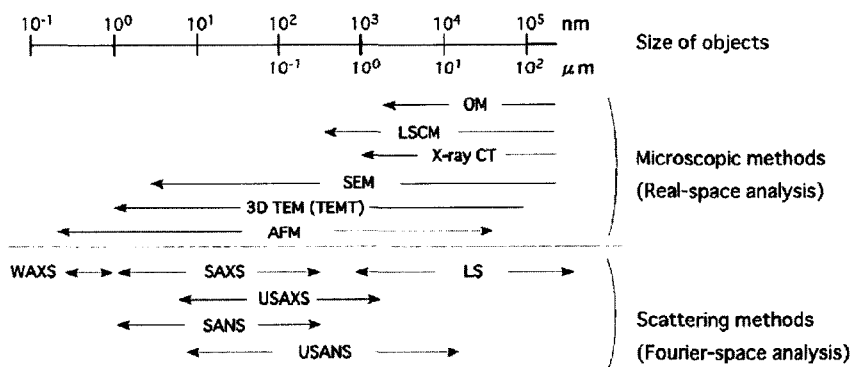


그림 1. 산란 방법의 공간적 분해능을 정리해 놓은 개략도. 약어가 가진 의미는 다음과 같다. OM(optical microscopy), LSCM(laser scanning confocal microscopy), X-ray CT(X-ray computerized tomography), SEM(scanning electron microscopy), TEMT(transmission electron microtomography), AFM(atomic force microscopy), WAXS(wide-angle X-ray scattering), SAXS(small-angle X-ray scattering), LS(light scattering), USAXS(ultra-small-angle X-ray scattering), SANS(small-angle neutron scattering), and USANS(ultra-small-angle neutron scattering).

기본적으로 TEM으로 찍은 2D 프로젝션 시리즈를 이용하여 CT(computerized tomography)를 기반으로 물체의 3차원 이미지를 구현한다. TEM은 나노미터 크기를 가진 3차원 정보를 제공해주는 새로운 접근방법이며 생물학적 분야에서 처음으로 과거 몇 년간 급속하게 발전을 하였다. 재료 과학분야에서는 여러가지 구조 분석하는데 있어 독보적이고 강력한 도구로써 높은 가능성에도 불구하고 최근에서야 재료 분야에서 활용되고 있다. 특히, 고분자의 복잡한 3차원 구조를 TEM로 연구한 예의 대부분은 블록 공중합체의 마이크로 상 분리 구조 분석에 대한 몇 개 뿐이다.⁹⁻¹¹ 이렇게 TEM 분야가 진보함에 따라 고분자의 3차원 모폴로지 분석이 가능해 지고 있으나, TEM을 찍기 위한 시료는 전자가 지나갈 수 있을 만큼의 100 nm 이하의 아주 얇은 시편을 준비하기 위한 노후우를 필요로 하며 때로는 고분자 시료가 전자 빔에 의해 파괴될 위험에도 노출되어 있다.

2.1 TEM의 원리 및 분해능

CT는 각 다른 각도에서 얻은 2D 프로젝션의 한 세트 이미지들로부터 관찰 물질의 대칭성에 관한 사전 가정이나 사전정보 없이 복잡한 3차원 내부구조를 구현해 낼 수 있다. 프로젝션 이미지로부터 3차원 이미지로 재구성하는 것은 Fourier space에서 관찰 대상과 그의 프로젝션의 상관관계를 이해하는 것이 필수적이다.¹² 실제 TEMT 실험에서는 TEM 칼럼내에 전사되는 전자빔에 대해서 시료를 기울임으로써 각 다른 각도에서 프로젝션 이미지가 얻어진다.⁸ TEM에서 가능한 기울임각(tilting angle)의 범위는 시료 홀더와 대물렌즈(objective lens)와의 상대적 기하학적 구조에 의해 제한 받는다. 높은 기울임각-대개 70° 근처-에서는 물리적으로 두 부분이 충돌하기 때문이다. 이러한 제한으로 인한 정보의 손실은 Fourier space의 가장자리 부분인데, 결과적으로 재구성된 3차원 이미지 중에서 특히 전자빔과 평행한 방향에 대한 분해능을 잃게 되는 것이다. 일반적으로, TEMT의 분해능은 다음과 같이 표현되어진다.¹³

$$r = \pi D_{CT} / N_{CT} \quad (1)$$

여기서 r 은 재구성된 이미지에서 보여지는 가장 작은 구조물의 크기이며, D_{CT} 와 N_{CT} 는 재구성되는 구조물의 지름(크기)와 프로젝션 갯수를 의미한다. 재구성된 이미지의 분해능은 프로젝션의 수에 강하게 영향을 받는다는 것을 알 수 있다. N_{CT} 가 증가할수록

Fourier coefficient의 밀도는 주어진 q 에서 더 조밀해질 것이다. 그러나 실제 TEMT 실험에서 각 증가분은 거의 1°(보통은 2°) 정도로 제한되어져 있는데, 이것은 전자빔에 의한 고분자 시료의 심각한 손상에 대한 우려 때문이다. 또한, 시료를 기울이면서 생길 수 있는 시료홀더의 불완전한 eucentricity 때문에 디지털화된 이미지 역시 정렬(alignment)이 어긋날 수 있다. 따라서 3차원 이미지로 재구성하는데 있어 디지털화된 이미지의 재정렬은 필수적이다. 이것은 작은 금입자와 같은 기준 표시입자의 위치를 least square tracking 하거나¹⁴ sequential cross correlating 함으로써 얻어지며, 간혹 두 방법을 결합해 사용하기도 한다.

2.2 블록 공중합체의 나노구조 분석

블록 공중합체는 화학적으로 다른 두 고분자가 공유결합으로 연결된 고분자를 일컫는다. 블록 공중합체는 여러가지 자기조립된 주기적 구조- 라멜라, 실린더 등- 를 가지며, 최근에는 여러 응용분야에서 이러한 블록 공중합체의 구조를 이용하기 위하여 그들의 모폴로지 형성에 대한 이해도를 높이기 위한 노력이 많이 되어 왔다.^{15,16}

특히 블록 공중합체 구조 중에서 perforated lamellar(PL), 더블 자이로이드(DG), 더블 다이아몬드(DD)와 같은 복잡한 bicontinuous 구조들이 관심을 끌고 있다.¹⁷⁻¹⁹ 이러한 구조들은 공중합체의 조성이 실린더와 라멜라 구조를 보이는 조성 사이에 좁게 해당될 때 보이는 구조로써 실험적으로 구별하기가 매우 어렵다. 예를 들어, 오래전에 더블다이아몬드 구조로 알려진 블록 공중합체 나노구조가 SAXS에 의해 자이로이드 구조로 뒤늦게 밝혀진 바가 있다.^{17,20} 몇몇의 프로젝션 축에 따라 그러한 구조들은 같게 보일 수 있기 때문에, TEM과 같은 2차원 이미징 분석법으로는 구별하기가 매우 어렵다.

계면활성제나 lipid 시스템에서도 이러한 bicontinuous 구조가 관찰되는데, 이들은 서로 섞이지 않는 단위체들은 컨택을 최소화 한다는 CMC(constant mean curvature) 개념에 의해 구조를 형성한다고 알려져 있다.²¹ 블록 공중합체의 나노구조는 이러한 자기조립 시스템 구조와 공통된 형태학적 특징을 가지고 있기 때문에, CMC 표면의 개념은 복잡한 블록 공중합체의 구조안정성을 설명하는 데도 활용되어져 왔다.¹⁸ 반면, 최근 Matsen과 Bates는 SCFT(self consistent field theory) 원리에 근거하여, 면적에 대해 평균적으로 얻어진 mean curvature($\langle H \rangle$)는 전체(gross) 구조(라멜라, bicontinuous, 실린더, 구형)를 결정하

고 그의 평균오차(σ_H)는 복잡한 나노구조의 세세한 안정성(G, D, PL)을 결정한다고 주장한바 있다.^{22, 23} 또한 여기서 나노구조의 안정성 결정에 있어서 무시할 수 없는 것이 packing frustration 값이라고 하였다. 즉, 정렬된 블록 공중합체의 소수 블록이 균일하게 공간을 채우고 계면은 어떠한 블록도 지나치게 stretch 되지 않게 자기 조절을 한다는 것이다. 이러한 엔트로피적 고려는 σ_H 가 0이라는 CMC 개념에서 벗어나는 다른 계면의 성질이다. 그러나 이러한 값들에 대한 정보를 실험적으로 얻어 확인할 방법은 없었다.

최근 10년 사이에 TEMT를 이용하여 블록 공중합체의 bicontinuous 구조를 3차원으로 구현하여 ICD (interfacial curvature distribution)를 계산하여 구조 분석한 실험결과들이 있다.^{9,24} **그림 2(a)**는 SIS(styrene-isoprene-styrene) 블록 공중합체 시료를 +60°에서 -60°까지 2.5° 간격으로 얻어진 49개의 디지털 이미지를 이용하여 얻은 TEMT 3차원 이미지이다.¹¹ 이 이미지에서 부피 분석으로 얻어진 스타이렌의 조성은 33%로, NMR 결과인 32%와 거의 일치한다. 이 이미지에서 밝거나 어둡게 표현된 채널은 모두 스타이렌을 나타내는 것인데 각각의 두 채널이 서로 교차하지 않으면서 네트워크를 이룬다는 것을 알 수 있다. 그림의 명확성을 위해 아이소프렌 성분은 투명하게 나타내었다. 이 구조에 대한 격자 상수를 살펴본 결과 G 구조로 알려졌으며, 이것은 SAXS 결과와 일치한다. **그림 2(b)**는 Schoen's G 표면에 근거한 CT 모델을 나타낸 것이다. 이 연구그룹은 이러한 블록공중합체의 실험적 bicontinuous 구조에 대해 ICD를 최초로 계산하였다. 즉, joint probability density ($P(H, K)$)를 실험적으로 나노구조에 대해 측정하여, G 구조의 계면이 원리적으로 mean curvature에서 무시할 수 없는

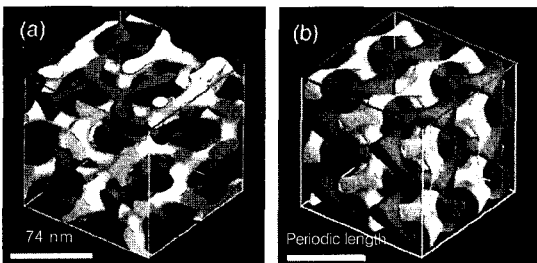


그림 2. (a) SIS 삼블록 공중합체의 자이로이드 모폴로지를 찍은 TEMT 사진, (b) Schoen's G 표면에 근거한 CT 모델. 서로 통과하지 않는 밝고 어두운 통로들은 스타이렌 minority phase이며 투명한 부분은 majority phase인 아이소프렌임. 위쪽단면이 DG의 001 평면임.

표준오차(즉, $\sigma_H \neq 0$)를 보이는 쌍곡선 구조임을 밝혀냈다. SCFT 예상에 따르면, σ_H 는 packing frustration의 측정이며, 즉 복잡한 나노구조에서의 안정성을 측정하는 것이다. CMC 가정과는 달리 여기서 G 구조에 대해 얻어진 값들은 SCFT의 예상과 일치하며, 이것은 CMC 모델이 나노 구조 블록 공중합체 구조의 모든 복잡한 특징을 설명해 줄 수는 없으며, 그러한 구조의 안정성을 설명하는데 있어 packing frustration 이 매우 중요하다는 사실을 확인하였다.

3. 컨포칼 현미경

3.1 컨포칼 현미경의 원리 및 분해능

1980년대 말 컨포칼 현미경이 개발되어 생체물질의 분석에 응용되기 시작하면서 생물학자들의 대단한 관심을 불러일으켰다.^{25,26} 일반적인 광학현미경의 초점 깊이는 공간적 분해능에 비해 대체로 매우 깊다. 이때 비초점면의 이미지까지 겹쳐져서 이미지의 3차원 분석을 어렵게 하였다. 컨포칼 현미경은 **그림 3**에 보이듯이 광학검출기(PMT) 바로 앞에 핀홀을 하나 위치 시킴으로써 이러한 단점을 극복하였다.²⁷ 굵은 실선은 대상의 초점 면에서 반사된 빛, 또는 형광 빛의 빛경로(optical path)를 의미한다. 이 빛은 핀홀 위치에서 집광된 후 검출기에 도달하게 된다. 그와 동시에 비초점 면에서 반사된 빛이나 형광신호는 핀홀에서 다시 반사

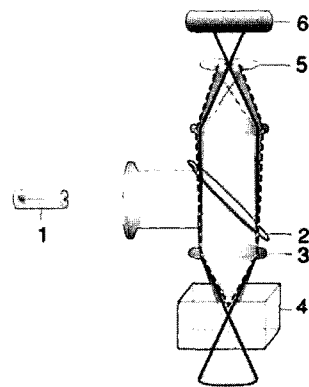


그림 3. 컨포칼 현미경의 셋업. 광원인 레이저 (1)은 다이크로익 거울 (2)에 반사되어 대물렌즈 (3)에 의해 집광되어 시편 (4)에 도달한다. 집광면에 위치하는 시편의 미세구조로부터 반사되거나 또는 형광으로 생성된 빛은 다시 집광되어 컨포칼 핀홀 (5)에 도달하며 이때 out-of-focus 광정보(점선)가 제외되고, 집광면의 정보만 통과하여 검출기 (6)에 도달하게 된다.

되어 검출기에 도달하지 못하게 된다. 오직 관찰된 부분의 중앙 초점 부분이 이미지로 도달하게 된다. 이러한 방법으로 이 시스템에서는 불필요한 이미지를 제거하여 우수한 깊이 분해능을 가지게 된다. 이렇게 얻어진 깊이 분해능, 즉 FWHM(full width at half maximum), Δz 는 1마이크로미터 또는 그 이하의 값을 가진다. 이 값은 사용하는 광원, 대물렌즈의 배율, 편홀

의 지름, 물질의 굴절률 등에 따라 달라지게 된다. 이렇게 다른 깊이의 광학평면에서 얻어진 2차원 이미지를 합침으로써 3차원 이미지로 재구성하게 되고 이것은 두꺼운 시료의 두께 프로파일을 가능하게 한다.

컨포칼 현미경법에는 **그림 4**에 나타냈듯이 여러 가지 방법이 가능하지만,²⁷ 그 중에서 **그림 4(b)**에 보인 LSCM(laser scanning confocal microscopy) 방법은 초점면(focal plane)을 따라 집광된 레이저 빔을 $x-y$ 평면에 대해 스캔함으로써 2차원적 이미지를 얻는 것이 가장 일반적이다. 지금까지 LSCM은 살아있는 세포, 콜로이드 결정 등의 다양한 구조를 관찰하는데 매우 성공적으로 사용되어 왔다.^{25,26} 또한 고분자 젤과 같은 고분자 재료의 모폴로지 연구, 고분자 블렌드의 스피노달 분해등에 대한 연구에도 쓰여왔다.^{28,29}

오래전 Abbe. E.의 연구에 따르면,³⁰ 분해능의 한계는 궁극적으로 굴절현상에 기인한다고 한다. 초점면에서의 분해능, 즉 FWHM는 다음과 같이 주어진다.

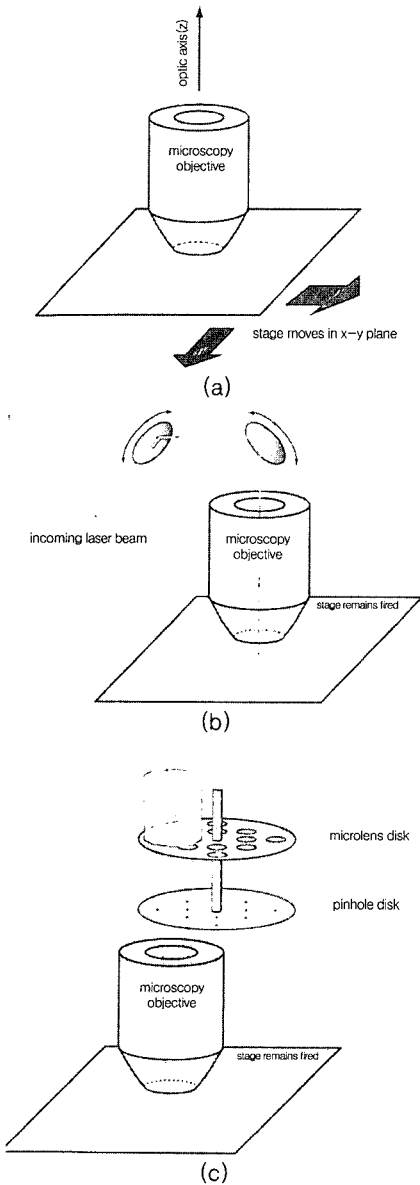


그림 4. 컨포칼 현미경 기기. (a) 광에 관련된 부분은 고정되어 있고, 샘플대가 움직이는 구성, (b) 두개의 각도조절 가능한 광학거울을 이용하여 광원 자체를 움직이는 구성 (LSCM), (c) 회전하는 마이크로렌즈 디스크와 핀홀 디스크를 이용한 구성.

$$\Delta x, \Delta y = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha} \quad (1)$$

여기서, λ , n , α 는 각각 파장, 굴절률, 대물렌즈의 semiaperture를 나타낸다. 또한 광축과 평행한 빛의 전파방향으로의 깊이 분해능은 아래와 같이 표현된다.

$$\Delta z = 2\lambda / (n \sin^2 \alpha) \quad (3)$$

원리적으로 공간분해능은 더 짧은 파장의 광원, 더 큰 각도를 사용한다면 향상될 수 있다. 그러나 현재의 기술면에서 볼 때, 가장 정밀한 에벌전 렌즈가 최대 68° 각을 보여주며, 이미지할 수 있는 가장 짧은 가시광선 영역이 300~400 nm 이다. 이에 근거한다면, 현재 컨포칼 현미경이 제공할 수 있는 분해능의 한계는 x, y 초점면에서는($\Delta x, \Delta y$) 150 nm 정도이고 광축방향에 대해서는(Δz) 500 nm 이상이다.

LSCM 기법은 조사된 빛과 조사하고자 하는 물질과의 상호작용에 의해 형광, 굴절, 반사등의 여러 검출법이 가능하며, 비파괴적 특성 및 빠른 이미징(0.1초~수초) 속도에 의해 살아있는 생체물질의 움직임이나 콜로이드 결정 형성, 고분자 상분리 등 다양한 동적거동의 실시간 3차원 공간적 관찰을 가능하게 한다.

3.2. 콜로이드 입자 및 결정 분석

콜로이드 입자는 유체 내에 존재하는 수나노미터~수

마이크론의 다양한 크기를 가지는 부유물로서, 특히 균일한 크기를 가지는 구형 콜로이드는 임계농도 이상의 조건에서 최조밀구조의 콜로이드 결정을 형성하게 된다. 콜로이드 입자들의 동적거동 및 결정형성과정, 그리고 형성된 결정의 이미징 및 디펙트 분석을 위해 LSCM이 매우 유용하게 활용될 수 있다. Weitz 등은 LSCM을 통해 콜로이드 용액 내에서 콜로이드의 결정형성을 모니터링하여 자발적으로 형성되는 결정의 종류 및 분포를 연구하였다.^{31,32} 대체로 구형의 콜로이드결정은 FCC(face centered cubic)와 HCP(hexagonal closed packing)의 혼합된 형태로 형성되는데 이는 두 가지 결정형태가 열역학적으로 거의 유사한 안정성을 가지기 때문이다.

Van Blaaderin과 Wiltzius는 형광물질이 함유된 실리카를 중심으로 하고 주위에 형광이 없는 실리카를 입힌 지름 1.5 μm 의 core-shell 실리카 입자들을 콜로이드 에피택시법으로 FCC 콜로이드 결정을 형성한 후, LSCM을 이용하여 콜로이드결정의 3차원분석을 통해 디펙트가 거의 없음을 증명하였다.³³ 그들의 연구에 의해 콜로이드 에피택시법이 디펙트가 없는 3차원 광결정의 템플레이트의 대량생산에 매우 유리한 방법으로 소개되었으며, Lee 등은 이 방법을 응용, 실제로 활용 가능한 형태의 광결정 형성법을 연구하였으며 LSCM을 통해 디펙트를 분석하여 공정의 최적화를

도모하였다.³⁴ **그림 5**는 40×40 의 계란판 구조를 가지는 기질 위로 형성된 1 μm 크기의 실리카 FCC 결정인데 가장 아래쪽의 실리카 결정층을 관찰한 xy 평면사진 및 xz 평면에서 본 LSCM 사진으로부터 디펙트가 없는 광결정을 얻었음을 확인할 수 있다. 또한 LSCM은 형광이 없는 시료의 경우 굴절모드를 이용 *in-situ* 분석이 가능하다. 실제로 굴절모드를 이용할 경우 산란의 특성상 광원의 coherence를 유지하므로 형광모드에 비해 약간 높은 분해능을 나타내는 장점이 있다.³⁴ 1 μm 정도의 분해능이 요구되는 콜로이드 결정, 또는 유사 시스템에서는 이와 같이 LSCM이 매우 유용하게 사용될 수 있으며 특히 동적 거동을 관찰하고자 하는 경우 실시간 비파괴 분석이 가능하다. Lee 등은 FCC 구조의 실리카 결정을 템플레이트로 하여 하이드로젤을 내부에서 중합시킨 후 글루코스 센서 등으로 응용한 바 있다. 이때 시간 및 글루코스 농도에 따른 하이드로젤 인버스오팔 구조의 변화의 분석에 LSCM이 사용되었다.^{35,36}

3.3 고분자 블렌드/혼합물 분석

고분자 블렌드 또는 혼합물내의 상분리 현상에 대한 동역학 및 패턴 형성에 관해서는 수십 년에 걸쳐 실험적, 이론적 연구가 진행되어져 왔으며 비선형 비평형(nonlinear nonequilibrium)현상의 좋은 예로 알려져 있다. 그중에 이성분 혼합물이 한 상으로 존재할 때 열역학적 변수-온도나 압력-의 변화에 의해 매우 급하게 스피노달 영역으로 전환된다면, 혼합물은 열역학적으로 매우 불안정한 스피노달 분해(Spinodal decomposition)에 의해 두 상으로 분리된다고 알려져 있다. 이러한 현상은 지금까지 광 또는 중성자 산란에 의해 실험적으로 많은 연구가 진행되어 왔다. LSCM을 이용한 3차원 구조분석법은 블렌드나 혼합물의 스피노달 분해현상에 대해, TEMT에서 보였듯이 interfacial curvature와 같은 계면의 기하학적 성질에 대한 정량적 분석이 가능하게 한다.

DPB(deuterated polybutadiene)/PB(polybutadiene) 혼합물의 상분리 구조를 364 nm 파장을 이용한 LSCM에 의해 관찰하였다.³⁷ PB에 레이블된 ant-hrancen 분자의 형광신호만을 관찰하기 위하여 검출기 앞에 밴드 패스 필터를 부착하였다. 따라서 PB 성분이 밝게 나타날 것이다. **그림 6**의 여섯 개의 이미지는 혼합물을 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1675분 anneal한 후, 시료의 동일한 지역에서 깊이만 달리하여 얻은 2차원 이미지들이다. 화살표로 표시된 곳을 보면, **그림 6(a)**에서는 다른 PB도메인과 따로 분리되어 있는 듯 하지만, 두

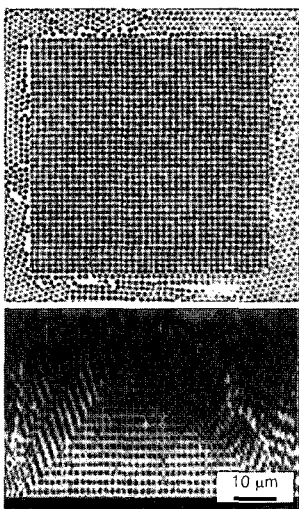


그림 5. 계란판 모양의 홈이 난 기질위에 형성된 콜로이드결정의 컨포칼 사진. 피라미드 형태로 형성된 단결정을 건조시킨 후 형광 이미지를 얻기 위해 Rhodamin 6G를 DMF에 녹여 침투시켰음(위쪽: 콜로이드결정의 최하층의 xy 이미지, 아래쪽: 콜로이드 결정의 xz 단면 이미지).

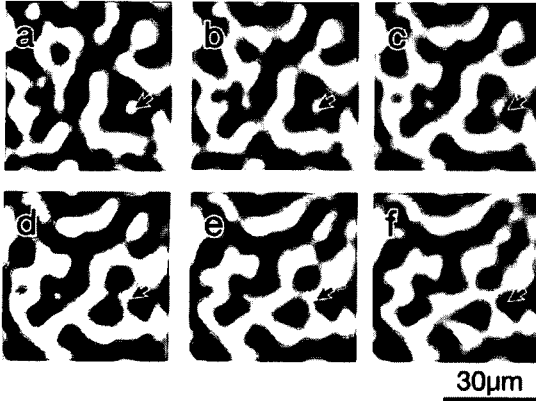


그림 6. 40도의 온도에서 1675분 동안 상분리된 DPB/PB 혼합물의 깊이에 따른 LSCM 2차원 사진들. a-f는 각각 1마이크론의 두께 증가에 따라 얻었으며 화살표로 표시된 지점이 각 이미지에서의 동일 픽셀 지점임.

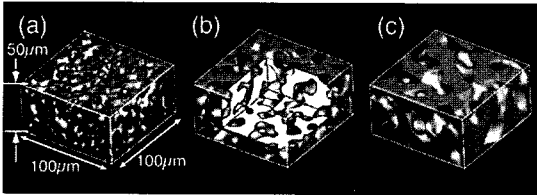


그림 7. 임계조성에서 DPB/PB 혼합물의 bicontinuous 구조 생성을 섭씨 40도의 SD onset에서부터 시간에 따라 관찰한 형광 LSCM 사진. $100 \times 100 \times 50 (\mu\text{m})^3$ 의 크기를 가지는 이미지를 (a) 1675초, (b) 2880초, (c) 4860초에 각각 측정하였다. 각 사진들에서 불투명한 부분은 안트라센 형광체를 도핑하여 얻은 PB-rich phase이며 DPB-rich phase는 투명하게 표시된 부분이다. 사진 (b)의 일부분은 3차원 구조의 단면을 보이기 위해 제외시켰다.

계방향으로 들어갈수록 다른 PB도메인과 연결되어 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 여러 개의 2차원 이미지들을 MCA(marching cubes algorithm)를 이용하여 3차원 이미지로 재구성한 것을 **그림 7**에 보였다. 각각 다른 annealing 시간에서 얻어진 세 개의 이미지는 상 분리 구조가 bicontinuous하고 서로 연결되어 있다는 것을 명확하게 보여준다. 또한, 단위부피당 계면 면적(interfacial area) 및 한 조성의 부피조성 또한 계산되어질 수 있었다.

지금까지 거의 대부분 상분리 현상에 대한 연구는 두꺼운 시료내부에서의 벌크 스피노달분해 현상에 대한 것이었다. LSCM을 이용한다면, 상분리 현상에 미치는 기관의 영향이나 시간에 따른 동력학에 연구가 가능할 것이다. **그림 8**은 유리표면에서부터 각기 다른 깊이에 위치한 세 곳의 2차원 이미지를 보여주는데, 각

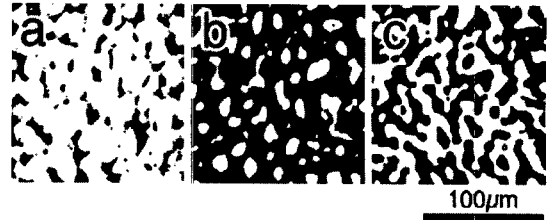


그림 8. 섭씨 40도에서 2856분 동안 SD가 일어난 DPB/PB 혼합물의 2차원 LSCM 슬라이스 사진. 유리기질 표면으로부터 깊이가 0인 부분(유리표면) (a), $z \sim 4 \mu\text{m}$ (b), $z \sim 25 \mu\text{m}$ (c)에서 각각 얻은 사진들로서 백색부분은 PB-rich, 검은색 부분은 DPB-rich phase임.

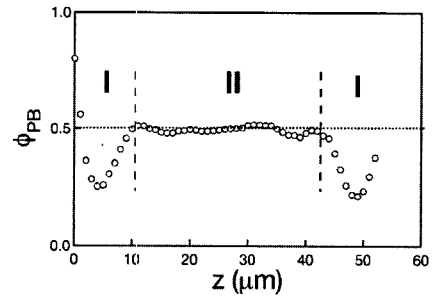


그림 9. 깊이에 따른 PB-rich phase의 부피율(ϕ_{PB}) 변화. 상분리 시간은 2846분임. 범위 I은 웨팅이 일어나는 지점, II는 고분자 벌크임.

각 다른 부피조성을 나타냄을 알 수 있다.³⁸ 여기서 계산된 부피조성의 변화를 **그림 9**에 나타내었다. 여기서, PB-rich 성분이 명확하게 유리 표면을 wetting하고 있으며, 바로 그 옆에 PB-rich 성분이 사라지는 depletion 층이 존재함을 알 수 있다. 내부의 성분은 거의 0.5로 고정되어 벌크에서의 값과 같음을 알 수 있다.

3.4 블록 공중합체 분석

현재까지 LSCM의 분해능의 한계로 아직까지 수십 나노미터 크기를 가지는 블록 공중합체의 전형적인 미세상 구조에 대한 연구는 이뤄진 바가 없다. 최근 들어 여러가지 모폴로지를 가지는 초분자량($\sim 10^6$ g/mol) 블록 공중합체가 가시광선 영역에서 1,2,3차원 광결정 구조 형성을 위해 성공적으로 합성되었다.^{39,40} 이러한 포토닉 BCP 시스템에서는, 미세상 구조의 주기성이 가시광선과 상호작용할 만큼 충분히 크기 때문에, 소위 광결정 밴드갭 성질-이 결정체에서는 특정파장의 빛이 전개를 방해 받게 된다-을 보인다. 이 물질의 주기적인 미세상의 크기는 수백 나노미터 정도이므로 이론적으로 LSCM 기술로써 관찰이 가능할 것이다. 이것은 블록 공중합체의 미세상 구조의 발현이나 ODT (order-disorder transition)과 같은 동적 거동에 대한 연구를

가능케 할 것으로 기대된다.

3.4 화학적 이미징(Chemical Imaging)

현미경 분석법을 자외선 또는 라만을 이용한 분광학적 방법과 결합하여 활용하면, 형태학적 정보에 국한된 분석뿐만 아니라 분자의 특정 기능기(functional group)에 대한 분석이 가능하다. 최근에 가장 활발하게 쓰이는 방법으로는 컨포칼 라만 분광법을 들 수 있다. 라만 분광법의 장점은, 형광이나 흡수를 위한 염료가 필요하지 않으며, 분자적 수준에서 직접 실험적 관찰이 가능하고, 편광 광원을 이용하여 배향에 대한 정보를 얻을 수 있다는 점이다. 또한 라만 피크의 위치와 밴드너비를 분석함으로써 화학적 정보를 밝힐 수 있다는 것이다. 이를 이용한다면, 고분자 나노복합재 내 필러(filler)나 나노/마이크로 구조 속에 분포하는 특정 분자의 분포 및 배향에 대한 관찰이 가능할 것이다.⁴¹⁻⁴³

3.5 컨포칼 현미경의 분해능 개선을 위한 연구

지금까지 살펴본 컨포칼 현미경은 수많은 장점에도 불구하고 광학적 분해능의 이론적 한계로 인해 100나노미터 이하의 크기를 가지는 물체에 대한 분석은 불가능한 것으로 인식되어 왔다. 특히 대물렌즈를 통해

집광된 레이저 빛의 집광 부피의 형태가 빛의 입사 방향으로 길쭉함으로 인해 시료의 두께방향 분해능은 빛의 파장 정도 크기에 불과했다. 그러나 최근 발표된 연구에 의하면 4- π 기법과 STED(stimulated emission depletion)를 접목시켜 광학 현미경법의 두께방향 분해능을 30배 가까이 증가시킨 바 있다.^{44,45} 4- π 기법에서는 시편의 위쪽과 아래쪽에 각각 위치한 대물렌즈를 접근시키면서 coherent한 레이저 빛을 시료 내부에 각각 집광을 하게 된다. 이때 광축(optic axis)을 따라 생성되는 두 레이저 빛의 보강간섭에 의해 500 nm 파장의 빛의 경우 100 nm까지 분해능이 증가한다. 그러나 이러한 4- π 기법은 개념상 굴절현상의 한계(diffraction limit)에서 벗어나지 못한다. 통상 4- π 와 함께 활용되는 STED는 집광점에서 레이저를 이용, 유발형광(stimulated emission)을 일으켜 집광점 주변에서의 자발형광(spontaneous emission)을 최소화시켜 굴절한계를 극복하고자 하는 아이디어으로써, 형광이 일어나는 지점의 PSF(point-spread-function)이 굴절한계를 벗어나게 되어 4- π 기법과 함께 이용될 경우 수십배의 분해능 개선을 일으키게 된다.⁴⁵⁻⁴⁷

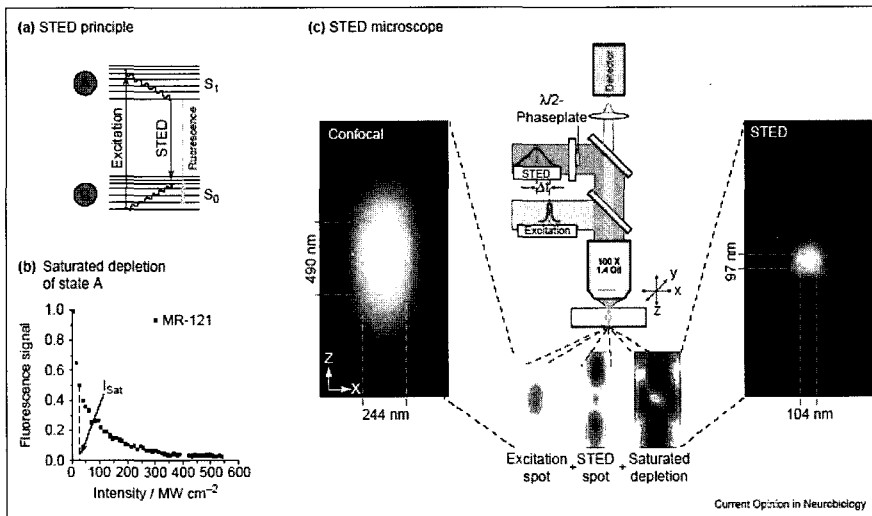


그림 10. STED(stimulated emission depletion)의 원리 (a) 들뜬 상태인 S1 (A 준위)의 형광체분자는 자발형광을 일으키며 S0 (B 준위)로 복귀한다. 이러한 복귀는 유발형광에 의해서 증폭될 수 있다. 유발형광을 극대화시켜 자발형광을 막으려면 S1 lifetime 보다 짧은 펄스주기를 가지는 강한 STED 광원이 필요하다. (b) 형광분자 MR-121의 단분자층에서 일어나는 형광을 통해 측정된 S1의 포화 디플리션을 STED 펄스의 강도에 대해 플롯한 그래프. 포화 강도 (ISAT)는 S1 디플리션이 50%인 지점을 의미한다. (c) 그림의 중간에서 보이듯이, STED광원과 컨포칼 광원은 동기화되어 시편의 동일 부분에 집광된다. 굴절한계를 가지는 형광광원의 집광 강도 분포는 일부분의 좌측에 해당하며 STED 집광은 가운데 분포그룹에 해당한다. STED 광원의 도우넛 형태의 집광으로 인해 집광점 주변에 포화 디플리션이 발생하며 이로 인해 집광점의 형광은 굴절한계를 벗어나게 된다. 확대된 컨포칼 형광 분포그림과 STED 형광 분포를 비교하면 축방향 분해능이 5배가량 증가함을 알 수 있다. 이와 같이 달성된 STED 형광부피는 약 0.67 아토리터라써 컨포칼 형광부피의 1/18 수준이며, 매우 정밀한 시스템의 경우 분자수준의 공간적 분해능을 가질 수 있을 것으로 예상된다.

그림 10(a)에서 보이듯이 유기형광체가 레이저 빛(**그림 10(c)**의 green)을 받아 자발형광이 일어나는 경우 펄스의 duration이 들뜬 상태인 S1(A준위)의 lifetime보다 짧고 강한 빛, 즉 STED광(**그림 10(c)**의 red)을 발광 레이저와 동기화시켜 시료에 조사하면 I_{SAT} 이상의 세기일 때 집광점 주변에서 도넛 형태의 부분에 형광체의 A 준위가 포화가 되면서 자발형광이 suppress된다. 이로 인해 굴절한계보다 훨씬 작은 집광부피가 생성되며, 약 5배 정도의 분해능 향상이 일어난다. 실제의 예로써, 4-pi와 STED를 함께 활용하여 membrane-labeled 박테리아의 이미지를 얻은 컨포칼 사진을 **그림 11(c)**에 나타내었다.⁴⁶ 통상의 컨포칼 현미경으로는 굴절한계에 의해 **그림 11(a)**와 같이 흐릿한 이미지로 나타나는데 반해 개선된 방법을 통하여 얻은 이미지(**그림 11(b)**)를 필터링하여 30 nm의 분해능을 성공적으로 달성하였다. 이는 사용된 레이저 파장

인 745 nm에 비교하여 $\lambda/23$ 의 분해능으로써 광학 현미경 기법으로 현재까지 달성한 최고기록이다. 4-pi 현미경 장비는 최근 Leica 등 광학 장비회사에서 생산 및 판매를 시작하여 앞으로 특히 생명공학 관련 연구에서의 큰 발전이 기대된다.

4. 결론

본 총설에서는 고분자 구조 및 기타 유무기 복합체 구조의 연구에 있어 최근에 이뤄진 방법론적 진보- 특히 3차원 현미경법-에 대해 다루었다. 본문에서 다뤄진 TEMT 및 컨포칼 현미경 이외에도 광학적 토모그래피, X-레이 CT나 NMR에 의해서도 3차원 구조 분석의 예는 몇몇 보여지고 있다.

3차원 현미경법에서 얻어진 3차원 구조에 대한 데이터는 한 성분의 부피 조성이나 단위 부피당 계면 부피와 같은 가장 기본적인 구조적 변수를 직접적으로 쉽게 측정이 가능하게 한다. 이러한 변수들은 2차원 이미지에서도 부분적으로 가능하지만, 정확도가 크게 떨어진다. 산란법에서 측정되는 고유길이(characteristic length) 또한 3차원 이미지의 퓨리얼 전환에 의해 계산되어질 수 있으며, 격자상수 분석도 물론 - 때로는 산란법보다도 더 정확하게- 가능하다. 이러한 기본적인 구조에 대한 변수뿐만 아니라, 3차원 이미지에서 얻어진 3차원 디지털 데이터 데이터는 훨씬 더 풍부한 구조적 정보를 제공해 줄 수 있다. 예를 들어, PSM(parallel surface method)이나 SFM(sectioning and fitting method)은 계면 곡면(interfacial curvature)에 대한 분석을 가능케 하는데, 이러한 구조적 변수들은 전형적인 다른 실험방법에 의해서는 밝혀진 바가 전혀 없다.

이렇게 디지털 데이터를 포함한 3차원 이미지 분석법의 개발은, 나노미터 크기에서부터 마이크로 크기에 걸쳐서, 예전부터 이론적으로 알려진 고분자 구조의 열역학적 거동이나 상분리 현상을 새롭게 규명할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 고분자 과학에 있어 숨겨져 왔던 새로운 물리적 현상도 제시할 수 있을 것이며 미래에는 새로운 연구분야의 개척까지 가능하리라 생각된다.

참고문헌

1. S. S. Sheiko, In *New Developments Polymer Analytics II*, **151**, 61 (2000).

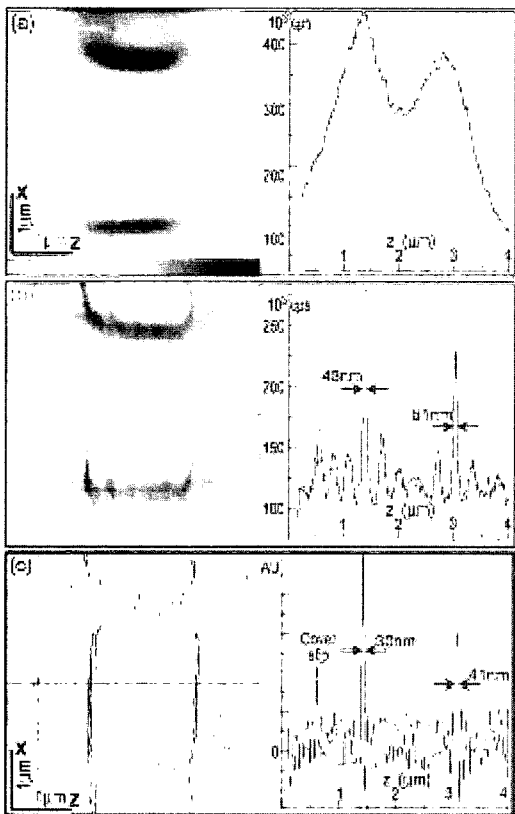


그림 11. Membrane-labeled bacteria의 xz 컨포칼 사진. (a) 기본적인 컨포칼 사진 (b) STED-4Pi, (c) Linear filtering을 거친 후의 STED-4Pi. 각 사진의 x 축을 따라 신호의 세기를 plot한 것이 우측의 그래프임. 그림 (c) 사진에서 짙은 선 부분은 30나노미터 정도의 분해능을 보인다.

2. S. Minko, A. Kiriya, G. Gorodyska, R. Sheparovych, R. Lupitskiy, C. Tsitsilianis, and M. Stamm, *Applications Of Scanned Probe Microscopy To Polymers*, **897**, 207 (2005).
3. M. J. Fasolka, L. S. Goldner, J. Hwang, A. M. Urbas, P. DeRege, T. Swager, and E. L. Thomas, *Phys. Rev. Lett.*, **90**, 016107 (2003).
4. M. Ballauff, *Current Opinion, In Colloid & Interface Science*, **6**, 132 (2001).
5. G. Hauser, J. Schmidtke, G. Strobl, and T. Thurn-Albrecht, *Scattering From Polymers* Amer Chemical Soc., Washington, Vol. **739**, pp 140–151 (2000).
6. H. Jinnai, Y. Nishikawa, T. Ikehara, and T. Nishi, In *Nmr - 3d Analysis - Photopolymerization*, Springer-Verlag Berlin, Berlin, Vol. **170**, pp 115–167 (2004).
7. C. Park, J. Yoon, and E. L. Thomas, *Polymer*, **44**, 6725 (2003).
8. P. A. Midgley, *Tomography using TEM*; Kluwer academic publishers, Boston, 2005.
9. R. J. Spontak, J. C. Fung, M. B. Braunfeld, J. W. Sedat, et al., *Macromolecules*, **29**, 4494 (1996).
10. L. H. Radzilowski, B. O. Carragher, S. I. Stupp, *Macromolecules*, **30**, 2110 (1997).
11. H. Jinnai, Y. Nishikawa, R. J. Spontak, S. D. Smith, D. A. Agard, and T. Hashimoto, *Phys. Rev. Lett.*, **84**, 518 (2000).
12. H. Cramer and H. Wold, *J. London Math Soc.*, **11**, 290 (1936).
13. R. A. Crowther, D. J. DeRosier, and A. Klug, *Proc R Soc London A*, **317**, 319 (1970).
14. J. Frank, *Electron tomography: three-dimensional imaging with the transmission electron microscope*, Plenum, New York, 1992.
15. F. S. Bates and G. H. Fredrickson, *Annual Rev. Phys. Chem.*, **41**, 527 (1990).
16. E. L. Thomas and R. L. Lescanec, *Phil. Trans. R. Soc A*, **348**, 149 (1994).
17. E. L. Thomas, D. B. Alward, D. J. Kinning, D. C. Martin, J. Handlin, D. L. Fetters, and L. J. Fetters, *Macromolecules*, **19**, 2197 (1986).
18. E. L. Thomas, D. M. Anderson, C. S. Henkee, and D. Hoffman, *Nature*, **334**, 598 (1988).
19. M. L. Schulz, F. S. Bates, K. Almdal, and K. Mortensen, *Phys Rev Lett.*, **73**, 86 (1994).
20. D. A. Hajduk, P. E. Harper, S. M. Gruner, C. C. Honeker, E. L. Thomas, and L. J. Fetters, *Macromolecules*, **28**, 2570 (1995).
21. S. T. Hyde, S. Andersson, K. Larsson, Z. Blum, T. Landh, S. Lidin, and B. W. Ninham, *The language of shape*, Elsevier, Amsterdam, 1997.
22. M. W. Matsen and F. S. Bates, *Macromolecules*, **29**, 7641 (1996).
23. M. W. Matsen and F. S. Bates, *J. Chem. Phys.*, **106**, 2436 (1997).
24. J. H. Laurer, D. A. Hajduk, J. C. Fung, J. W. Sedat, S. D. Smith, S. M. Gruner, D. A. Agard, and R. J. Spontak, *Macromolecules*, **30**, 3938 (1997).
25. T. Wilson, *Confocal microscopy*, Academic, London, 1990.
26. T. Wilson, *Handbook of biological confocal microscopy*, Plenum, New York, 1990.
27. P. J. Lu, *Confocal scanning optical microscopy and nanotechnology*, Kluwer academic publishers, Boston 2005.
28. H. Verhoogt, J. van Dam, d. B. A. Posthuma, A. Draaijer, and P. M. Houtpt, *Polymer*, **34**, 1325 (1993).
29. W. R. White and P. Wiltzius, *Phys. Rev. Lett.*, **75**, 3012 (1995).
30. E. Abbe, *Archf Mikroskop Anat*, **9**, 413 (1873).
31. U. Gasser, E. R. Weeks, A. Schonfield, P. N. Pusey, D. A. Weitz, *Science*, **292**, 258 (2001).
32. A. D. Dinsmore, E. R. Weeks, V. Prasad, A. C. Levitt, and D. A. Weitz, *Appl. Optics*, **40**, 4152 (2001).
33. A. V. Blaaderen, R. Ruel, and P. Wiltzius, *Nature*, **385**, 321 (1997).
34. W. Lee, A. Chan, M. A. Bevan, J. A. Lewis, and P. V. Braun, *Langmuir*, **20**, 5262 (2004).
35. Y. J. Lee, S. A. Pruzinsky, and P. V. Braun, *Langmuir*, **20**, 3096 (2004).
36. Y.-J. Lee, P. V. Braun, P. *Adv. Mater.*, **15**, 563 (2003).
37. H. Jinnai, Y. Nishikawa, H. Morimoto, T. Koga, and T. Hashimoto, *Langmuir*, **16**, 4380 (2000).
38. H. Jinnai, H. Kitagishi, K. Hamano, Y. Nishikawa, and M. Takahashi, *Phys. Rev. E*, **67** (2003).
39. Y. Fink, E. L. Thomas, A. Urbas, and M. Xenidou, *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, **221**, U233 (2001).
40. A. M. Urbas, M. Maldovan, P. DeRege, and E. L. Thomas, *Advanced Materials*, **14**, 1850 (2002).
41. S. K. Doorn, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **5**, 1023 (2005).
42. S. C. Bae, H. Lee, Z. Q. Lin, and S. Granick, *Langmuir*, **21**, 5685 (2005).
43. S. J. F. Erich, J. Laven, L. Pel, H. P. Huinink, and K. Kopinga, *Prog. Org. Coat.*, **52**, 210 (2005).
44. V. Westphal, L. Kastrup, and S. W. Hell, *Appl. Phys. B.*, **77**, 377 (2003).
45. S. W. Hell, M. Dyba, and S. Jakobs, *Current Opinion in Neurobiology*, **14**, 599 (2004).
46. M. Dyba and S. W. Hell, *Physical Review Letters*, **88**, 163901 (2002).
47. M. Dyba, J. Keller, and S. W. Hell, *New J. Phys.*, **7**, 134 (2005).