장-흐름 분획법을 이용한 고분자 분석

The Characterization of Polymers by Field-Flow Fractionation

유진숙 · 오선옥 | Jinsook Ryu · Sunok Oh

LG Chem, 104-1, Moonji-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-738, Korea
E-mail: jsryu@lgchem.com

1. 서론

고분자의 성질은 분자를 이루는 화학적 구조와 조성뿐 아니라 분자량 및 분자량 분포에 의해 좌우된다. 특히 최근 산업에 사용되는 고분자는 미세 조절에 의해 물성을 바꾸기 때문에 앞에서 언급한 특성을 포함하여 어떤 형태로 branching되어 있는가도 고분자 제품의 최종 가공 및 제반 물성에 큰 영향을 미친다. 그러므로 개발하는 물질이나 생산되는 제품의 특성을 이해하기 위해서는 고분자를 정밀 분석하고 해석하는 것이 중요하다. 분자량을 측정하는 방법으로 용액 점도나 광산란, 삼투압 등이 사용될 수 있다. 그러나 이 방법들은 전체 고분자의 평균 분자량 값만 얻는 것으로 분포를 보기 위해서는 고분자를 분리할 필요가 있다. 가장 널리 사용되는 고분자 분포 측정 방법은 size exclusion chromatography(SEC) 또는 gel permeation chromatography(GPC) 법이다. 1960년대 초 Dow Chemical사의 J. C. Moore[1]에 의해 개발되어 현재까지 가장 널리 사용되는 분석법이지만 컬럼의 충진재에 의해 분석의 한계가 존재한다. 이를 보완할 수 있는 방법이 장-흐름 분획법(field-flow fractionation, 이하 FFF)이다. FFF는 1966년 미국 Utah 대학의 J. Calvin Giddings[2,3]에 의해 이론화된 분리 기술이다. 주로 콜로이드나 입자형 물질, 세포와 같은 생체 물질, 라텍스 입자, 금속입자, 도료입자 등을 크기 별로 분리하여 그 분포를 분석하는데 사용되어 왔으며 최근 환경 관련 입자나 합성 고분자, 단백질, DNA 등을 분리하는데 적용되고 있다. FFF는 속이 빈 채널을 통과하는 물질의 확산계수 차이에 근거하여 물질을 분리하는 기술로써 사용하는 시스템의 구성은 액상 크로마토그래피 법과 동일하다. 그러나 액상 크로마토그래피는 정지상으로 채워진 컬럼을 사용하는 반면, FFF는 속이 빈 얇은 띠 모양의 빈 채널을 사용하기 때문에 단일상 크로마토그래피로 볼 수 있다. 채널 내에는 정지상이 없기 때문에 액상 크로마토그래피에서처럼 정지상에 시료가 흡착되거나 정지상 입자의 기공을 통과하면서 받는 압력에 의해 시료가 degradation이 되는 문제를 극소화 할 수 있으므로 액상 크로마토그래피 방법에 비해 용매 선정이 쉽고 더 큰 분자량 영역을 분석할 수 있는 장점이 있다. 따라서 측정 범위를 분자량으로 정의하면 약 10^3 ~ 10^{14} g/mol, 입자 크기로는 10 nm ~ 100 ㎛로 넓은 범위에 걸쳐진 물질 분리가 가능하다. 또한 채널에 수직 방향으로 걸리는 외부장의 세기를 시간에 따라 변화시킴으로써 시료의 머무름 정도를 조절하여 분리능을 증가시킬 수 있다. 이론이 비교적 간단하여 물리적 특성이 알려진 물질의 경우 채널에 머무르는 시간을 예측할 수 있고, 반대로 시료의 머무름으로부터 시료의 크기, 확산계수 또는

Author

유진숙

1999 고려대학교 화학과 (학사)
2005 포항공과대학교 화학과 (이학박사)
2005-현재 LG화학 기술연구원

오선옥

2004 연세대학교 화학과 (학사)
2007 연세대학교 화학과 (석사)
2007-현재 LG화학 기술연구원

밀도와 같은 물리적 특성을 이론적으로 계산할 수 있다. FFF는 외부 장의 종류에 따라 흐름장-흐름 분획법(flow FFF), 열장-흐름 분획법(thermal FFF), 침강장-흐름 분획법(sedimentation FFF), 전기장-흐름 분획법(electrical FFF), 중력장-흐름 분획법(gravitational FFF) [3-6]등으로 나눌 수 있다. 분리하려는 물질의 특성에 따라 외부 장을 결정할 수 있으며 여러 FFF 종류 중 flow FFF와 thermal FFF는 합성 고분자 시료의 분리 및 특성 분석에 널리 사용되고 있다.

본 보고서에서는 FFF의 여러 가지 기술 중에서 유체의 교차 흐름을 외부장으로 사용하는 흐름장-흐름 분획법(flow FFF 또는 AF4)과 채널 내의 온도구배를 외부 장으로 사용하는 열장-흐름 분획법(thermal FFF)에 대한 이론 및 이를 고분자 분석에 응용한 사례에 대해 정리하였다.

2. 본론

2.1 FFF의 원리

장-흐름 분획법에서 사용하는 채널은 두 개의 판 사이에 길이 약 30 cm, 폭은 약 1~2 cm, 두께가 약 50~350 ㎛ 정도인 리본 모양의 스페이서(spacer)를 끼워 공간을 만들어 준 형태이다. 채널의 구조적인 특성 때문에 두 판 사이에 유체를 흘려주면 채널 내부에 형성되는 표면장력에 의해 판 양쪽의 유속은 느리고 판의 중심으로 갈수록 유속이 빨라지는 포물선형 흐름(parabolic flow)이 형성된다(그림 1).

이 채널 내에 흐르는 유체와 채널에 수직으로 작용하는 외부 장(external force, driving force)을 적당히 조절하면 고분자의 크기에 따라 머무름을 조절함과 동시에 이동속도에 차이를 주어 분리를 할 수 있다. 외부 장이 가해지면 채널 내에 퍼져 있는 입자들은 누적벽(accumulation wall) 쪽으로 이동한다. 그러나 누적벽에서는 누적벽으로부터 유체의 흐름 속으로 입자들을 밀어내는 브라운 확산이 지배적이기 때문에 외부 장과 브라운 확산의 상반되는 두 힘이 상호균형을 이루게 되어 입자들은 누적벽으로부터 근접한 위치에서 정류상태(steady state)에 놓이게 된다. 이때 크기가 작은 입자는 큰 입자보다 상대적으로 확산이 커지므로 채널의 누적벽에서부터 높은 위치에서 힘의 평형을 이루게 된다. 이렇게 누적벽에서부터 수직 방향으로 입자의 크기에 따라 배열이 되면 판 사이를 흐르는 유체의 포물선형 흐름에 의해 상대적으로 빠른 흐름선상에 위치한 작은 입자들이 누적벽에 더 가까이 있는 큰 입자보다 빠른 속도로 이동하게 된다. 따라서 시간이 지남에 따라 작은 입자에서 큰 입자 순서로 분리되어 용출되는데 이것을 장-흐름 분획법의 대표적인 작동모드인 normal mode라고 한다. 본 보고서에서 다룰 고분자 물질은 대부분 normal mode에 의해 분리된다. 반면 입자의 크기가 1 ㎛보다 큰 경우, 입자는 입자의 무게 때문에 브라운 확산의 영향을 거의 받지 않는다. 누적벽에 놓인 입자들 중 크기가 큰 입자가 상대적으로 크기가 작은 입자에 비해 무게 중심 위치가 높기 때문에 포물선형 흐름의 빠른 속도 흐름에 포함되어 먼저 용리된다(그림 2).

따라서 입자의 크기가 1 ㎛보다 큰 물질의 분리순서는 normal mode의 역순이 되고 이를 steric mode[7]라고 부른다.

그림 3에 flow FFF와 thermal FFF channel을 개략적으로 나타내었다. Flow FFF 채널은 두 개의 블록 사이에 2 ~ 5 ㎛의 pore를 갖는 다공성 재질의 프릿, 스페이서, 멤브레인으로 구성되어있다(그림3(a)).

멤브레인은 누적벽의 프릿 위에 놓여 시료의 손실을 막는 역할을 한다. 스페이서의 양쪽 면에 프릿이 위치하는 형태의 flow FFF를 symmetrical flow FFF라고 한다. 반면에 스페이서 위쪽 면은 프릿 대신 유체가 통하지 않는 물질로 대체하고 누적벽 쪽의 프릿만 있는 flow FFF를 asymmetrical flow FFF라고 한다. Asymmetrical flow FFF에서 유체는 채널의 입구에 있는 inlet으로만 들어가고, cross-flow와 채널의 outlet 두 방향으로 나오게 된다(그림 4).

Asymmetrical flow FFF 채널은 symmetrical 채널에 비

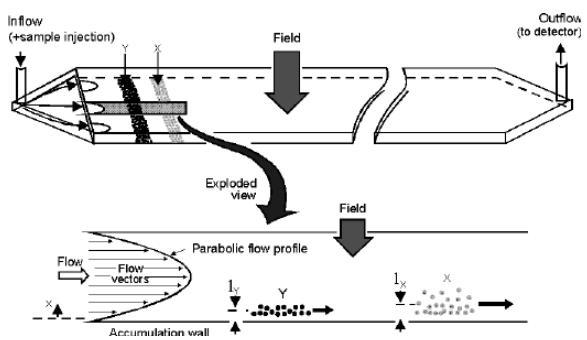

그림 1. FFF 채널 모식도.

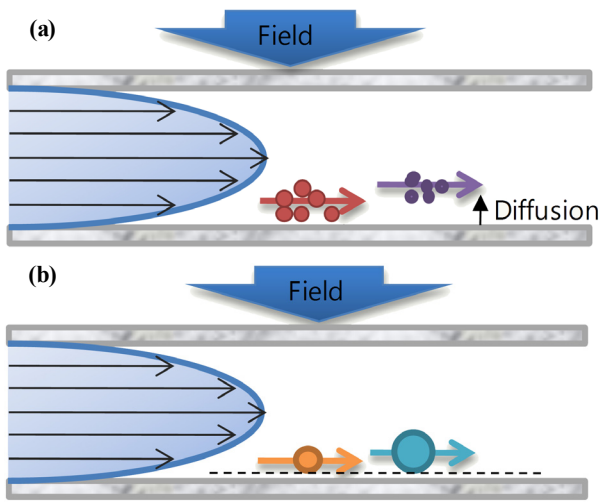

그림 2. FFF의 작동모드 : (a) normal mode, (b) steric mode.

해 구조가 간단하고 cross-flow가 채널의 일부에서만 흐르므로 시료의 머무름 정도를 조절하는 것이 상대적으로 쉽다. 또한 symmetrical flow FFF 에서는 relaxation 만 존재하는 반면에 asymmetrical flow FFF는 relaxation 전에 시료의 focusing 과정이 있어서 symmetrical flow FFF에 비해 resolution이 좋고, 좁은 피크를 얻을 수 있는 장점이 있어 최근에는 보다 더 보편적으로 사용된다. 채널 내에 사용되는 멤브레인은 유체는 통과하고 시료는 통과하지 못하게 하는 역할을 하며, 멤브레인의 재질은 regenerated cellulose, sulfonated polystyrene, polypropylene, polyethersulfone, polyacrylamide, polyacrylonitrile 등 다양한 종류가 사용된다. 멤브레인의 pore size는 molecular weight cutoff를 결정하는데 대부분의 멤브레인에서 molecular weight cutoff는 10^3~10^4 g/mol 수준이다. 즉, molecular weight cutoff 보다 작은 분자량의 시료는 멤브레인을 통과하여 cross flow로 빠져나가게 되므로, flow FFF에서는 10^3 ~ 10^4 g/mol 이상의 분자량을 갖는 고분자만 분석이 가능하다.

Thermal FFF 채널은 hot 블록, 스페이서, cold 블록으로 이루어진다(그림 3(b)). 구리와 니켈 등의 금속으로 이루어진 스페이서의 양쪽 블록에 온도 차이를 주면 채널 내부에서 온도 구배가 생기게 되고 이러한 온도 구배가 외부 장으로 작용하여 시료가 그 특성(분자량과 열 확산 계수)에 따라 분리된다.

2.2 FFF의 이론

Asymmetrical flow FFF[8]에서 시료의 머무름이 충분한 경우, 시료의 확산계수 D와 머무름 시간 t_r과의 관계는 식 (1)로 주어진다.

$$D = \frac{t^0 V_c w^2}{6 V_0 t_r} \quad (1)$$

식 (1) 에서 t^0는 채널의 void time으로, 머무름이 없는 시료가 용출되는 시간이며, V_c는 cross-flow의 유속, w는 채널 두께, V_0는 채널의 void volume을 나타낸다. 또한 시료의 확산계수 D는 Stokes–Einstein 식에 의하면 다음과 같이 표현된다.

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta d_h} \quad (2)$$

위 식에서 k는 볼츠만 상수, T는 절대온도, η는 이동상의 점도, d_h는 시료의 hydrodynamic diameter이다. 두 식을 정리하면 식 (3)을 얻는다.

$$d_h = \frac{2kTV_0}{\pi\eta V_c w^2 t^0} t_r \quad (3)$$

식 (3)에서 시료의 hydrodynamic diameter는 머무름 시간에 비례한다. 따라서 flow FFF에서는 크기 배제 크로마토그래피(SEC)와는 반대로 분자량이 작은 성분이 먼저 용리되고 분자량이 증가함에 따라 머무름 시간이 증가한다. 또한 위 식들을 이용하면 시료의 머무름 시간으로부터 시료의 확산계수와 크기에 대한 정보를 얻을 수 있다.

Flow FFF와 달리 thermal FFF는 채널의 위와 아래 면 사이의 온도차이로 인한 온도 구배를 외부 장으로 이용하는 기술로 유기 용매 사용에 적합하기 때문에 합성 고분자를 분리하여 분석하는 데 적용할 수 있다. Thermal FFF 채널 내부의 도식 그림을 그림 5에 나타냈다.

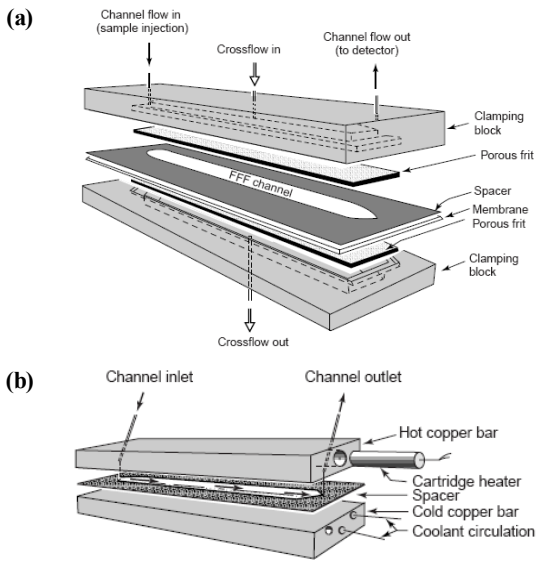

그림 3. FFF 채널의 구성 : (a) Flow FFF, (b) Thermal FFF.

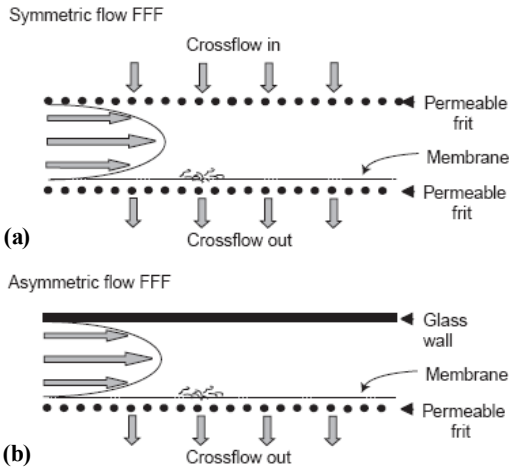

그림 4. (a) Symmetrical Flow FFF와 (b) Asymmetrical Flow FFF.

Thermal FFF에서 시료의 머무름 t_r은 식 (4)로 표현할 수 있다. Thermal FFF의 경우, 시료의 머무름 시간은 시료의 열확산계수 D_T에 비례하고 확산계수 D에 반비례한다.

$$t_r \approx \frac{t^0 \Delta T}{6}\left(\frac{D_T}{D}\right) = const.\left(\frac{D_T}{D}\right) \quad (4)$$

식 (4)에서 t^0는 void time, ΔT는 채널 위, 아래의 온도 구배, 즉 hot wall과 cold wall 사이의 온도차이를 나타낸다. Homopolymer처럼 일정한 화학적 조성을 갖는 고분자의 열확산계수 D_T는 분자량에 관계없이 거의 일정한 것으로 알려져 있기 때문에 시료의 머무름은 주로 확산계수 D에 의해 결정된다. Thermal FFF에서 확산계수 D는 식 (5)와 같이 표현된다.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta_0}\left(\frac{10\pi N_A}{3M[\eta]}\right)^{1/3} \quad (5)$$

여기에서 η_0는 이동상의 점도, N_A는 아보가드로 수, $[\eta]$는 시료의 고유점도(intrinsic viscosity)이다. 수식에서 알 수 있듯이 시료의 확산계수는 분자량에 반비례하므로, SEC와는 반대로 시료의 머무름 시간은 분자량이 증가함에 따라 증가한다.

3. FFF를 이용한 고분자 분석

3.1 Field Programming을 이용한 고분자 분리

Field programming이란 FFF의 외부장의 세기를 조절하여 머무름이 큰 시료, 즉 분자량이 큰 시료의 용출 시간과 resolution을 적절하게 조절하는 방법이다. 이론적으로 FFF에서 용리 시간의 제한은 없으나 그림 6(a)처럼 constant field에서 큰 고분자는 용출 시간이 너무 길어져 분석의 의미가 없어진다. 반대로 constant field를 낮추면 분자량이 큰 고분자의 분리능은 좋아질 수 있으나 저분자의 분리능을 포기해야 한다. 따라서 field programming을 이용하여 field의 세기를 시간에 따라 감소시키면 머무름이 큰 고분자량 시료의 머무름을 단축시킴으로써 분리속도를 향상 시킬 수 있다[9]. Flow FFF에서 field programming은 크게 세 단계로 이루어진다. 먼저 시료 주입 후 일정 시간 동안은 cross-flow를 일정하게 유지하고 그 후 cross-flow를 점차 감소시키며 마지막에는 모든 시료가 용출되도록 cross-flow를 적용하지 않는다.

그림 6에 4, 30, 90, 166, 350, 1,000 kg/mol의 polystyrene sulfonate(PSS) 혼합시료를 일정 field로 분리한 경우 (a)와 field programming을 이용하여 분리한 경우 (b)를 비교하였다. Cross-flow가 일정하게 유지된 (a)에서는 350 kg/mol PSS 표준시료가 약 25분에서 40분에 걸쳐 넓은 분포로 용출이 되며 1,000 kg/mol PSS 표준시료는 60분까지 용출되지 않았다. 반면에 cross-flow를 3 ml/min에서 0 ml/min으로 순차적으로 감소시킨 field programming을 적용한 (b)에서는 350 kg/mol PSS가 30분 이내에 용출되었으며 피크 모양도 더 좁아졌다. 또한 저분자량 시료의 resolution 저하 없이 1,000 kg/mol PSS도 60분 이내에 모두 용출되었다. 따라서 field programming 을 이용하면 분자량이 낮은 시료부터 분자량이 높은 시료까지 모두 분리가 가능한 장점이 있어, 현재 대부분의 FFF는 field programming을 통해 이루어진다. Field programming을 적용하면 채널 내의 압력변화로 인해 RI 검출신호의 drift가 생기므로 blank의 fractogram으로 보정하게 되는데 그림 6(b)는 동일한 조건에서 얻은 blank 시료의 용출곡선을 이용하여 baseline을 교정한 용출곡선이다.

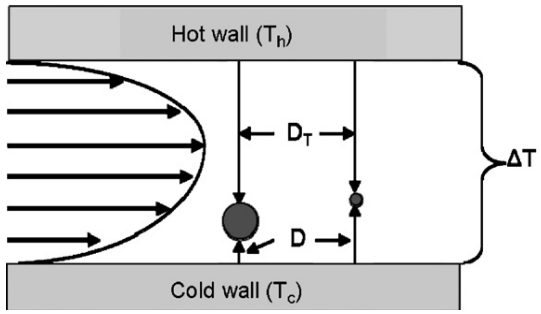

그림 5. Thermal FFF 채널 내부의 도식 그림.

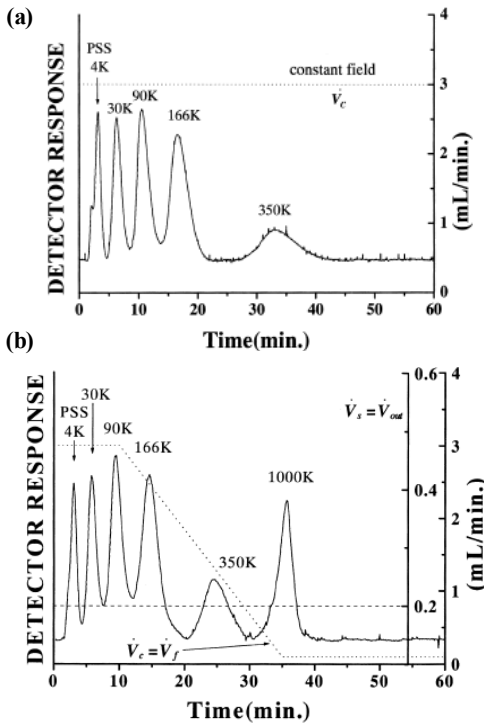

그림 6. PSS 혼합시료의 분리 : (a) 일정 field를 사용한 경우, (b) field programming을 사용한 경우.

표 1. 컬럼과 cross-flow를 달리하며 SEC와 AF4에서 측정한 polystyrene 분자량 결과

SEC					AF4				
sample	M_w (kg/mol)	M_n (kg/mol)	R_g[d] (nm)	DI[e]	sample	M_w (kg/mol)	M_n (kg/mol)	R_g[d] (nm)	DI[e]
PSmix 1[a]					**cross-flow A**				
62 kg/mol	65.7	60.2	16.5	1.09	62 kg/mol	81.7	70.0	11.5	1.17
250 kg/mol	273	265	22.0	1.03	250 kg/mol	306	293	24.8	1.05
10^3 kg/mol	964	878	44.5	1.10	10^3 kg/mol	1070	1060	46	1.01
PSmix 2[b]					**cross-flow B**				
62 kg/mol	55.8	52.2	15.3	1.07	62 kg/mol	71.5	70.3	15.9	1.02
250 kg/mol	221	197	21.7	1.12	250 kg/mol	246	239	26.9	1.03
10^3 kg/mol	842	753	44.3	1.12	10^3 kg/mol	764	749	46.3	1.02
PSmix 3[c]					**cross-flow C**				
62 kg/mol	98.9	90.1	29.2	1.10	62 kg/mol	68.3	66.1	17.8	1.03
250 kg/mol	308	289	41.1	1.07	250 kg/mol	244	242	21.4	1.01
10^3 kg/mol	910	892	56.9	1.02	10^3 kg/mol	810	776	44.9	1.04
					cross-flow D				
					62 kg/mol	51.1	59.2	9.7	1.03
					250 kg/mol	256	252	22.4	1.02
					10^3 kg/mol	1090	1030	45.4	1.06

[a]One PL mixed C column used at flow rate of 0.5 mL/min. [b]One PL mixed B and one PL mixed C column used at flow rate of 0.5 mL/min. [c]One PL mixed A and one PL mixed B column used at flow rate of 0.5 mL/min. [d]z-average. [e]Dispersity index.

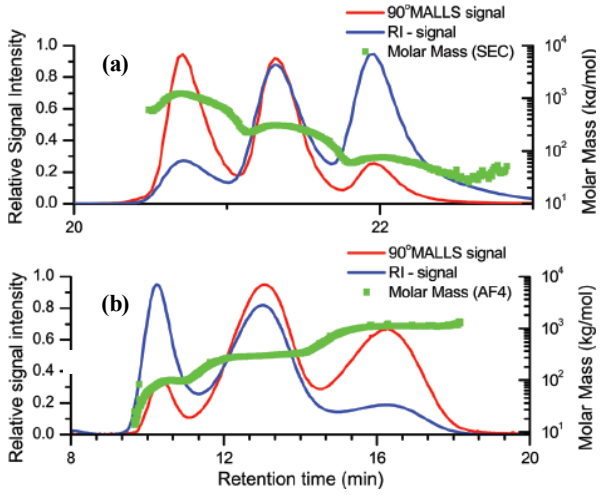

그림 7. Polystyrene standard를 SEC와 AF4로 분리한 결과. (a) SEC elugram과 molar mass; PL mixed C 사용. (b) AF4 fractogram과 molar mass; Cross-flow A 적용, flow rate (SEC, AF4)=0.5 mL/min.

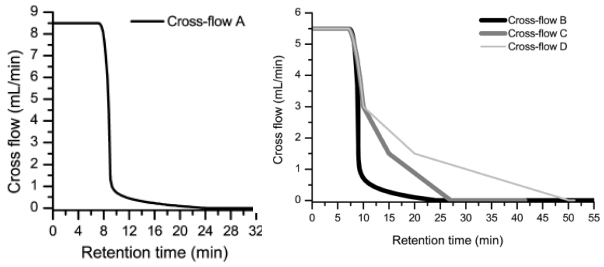

그림 8. AF4의 cross-flow profile.

이처럼 FFF는 SEC와 마찬가지로 고분자를 분자량 또는 크기에 따라 분리를 한다. 단지 차이는 SEC의 컬럼 대신 FFF의 채널을 사용하는 것이다. 따라서 FFF의 장점을 살릴 수 있는 초고분자가 아니라면 두 분석법은 동일한 결과를 보여줘야 한다. H. Pasch[10]는 polybutadiene 고무 분석에 앞서 SEC와 AF4(flow FFF)로 polystyrene 표준 시료 3개(62, 250, 1,000 kg/mol)를 분석하여 측정 방법에 따른 결과를 비교하였다(그림 7).

유사한 농도의 고분자에 대해 광산란 검출 결과와 molar mass 값을 보면 용출 순서가 반대임을 알 수 있다. SEC는 컬럼을 통과할 때 분자량이 클수록 정지상에 머무르는 시간이 짧은 반면 AF4에서는 분자량이 클수록 채널의 낮은 유속에 속하여 용출 시간이 느려지기 때문이다. 가장 작은 분자량인 62 kg/mol 고분자가 SEC 분석에 비해 AF4에서는 분자량 분석 결과 큰 값으로 측정되었다. 250 kg/mol과의 분리능이 떨어져 250 kg/mol의 피크가 62 kg/mol의 피크 계산에 영향을 주었기 때문이다. 따라서 분리 효율을 높이기 위해 cross-flow 세기와 시간에 따른 감소분을 바꿔가며(그림 8) 3개의 polystyrene을 분석하였다. 4가지 cross-flow를 적용한 결과 cross-flow D를 적용하면 세 시료가 baseline까지 분리되는 결과를 얻을 수 있었다. 또한 이 조건에서 분자량을 분석했을 때 세 시료 모두 정확한 값을 구할 수 있었다(표 1). SEC 분석의 경우 PL gel mixed C 컬럼을 사용하여 분석한 결과 시료간 겹침을 피할 수 없었고(그림 7(a)), 시료간 분리 효율을 높이기 위해 PL gel mixed B와 C, 그리고 A와 C를 연결하여 다시 분석을 시도하였다. 그러나 SEC는 컬럼의 정해진 부피 내에서 분리가 일어난다는 한계가 있기 때문에 컬럼을

표 2. Filter 전/후 sodium hyaluronate의 분자량(n=3)

	Without filtration	Filtration at 0.45μm	Filtration at 0.2 μm
Mw (g/mol)	$(6.23\pm0.22)\times10^6$	$(3.55\pm0.20)\times10^6$	$(3.10\pm0.192)\times10^6$
Mn (g/mol)	$(4.35\pm0.27)\times10^6$	$(2.57\pm0.13)\times10^6$	$(2.31\pm0.13)\times10^6$
Mw/Mn	1.45±0.11	1.39±0.06	1.24±0.05
RMS rsdius (nm)	156.1±11.9	144.6±7.7	141.7±4.2

바꿔도 세 시료의 분자량이 모두 정확히 측정되지는 않았다.

3.2 Flow FFF-MALS를 이용한 고분자 분석

Flow FFF에 광산란 검출기(light Scattering detector)를 on-line으로 연결하면 보정곡선을 구할 필요 없이 고분자의 분자량을 결정할 수 있다. 특히 여러 각도에서 산란광의 세기를 측정하는 다각도-광산란 검출기(multiangle light scattering, MALS)를 연결하면 시료의 평균 분자량과 평균 분자크기는 물론 분자량 및 분자 크기의 분포[12]를 얻을 수 있다. 측정하고자 하는 시료와 동일한 조성을 갖는 고분자 표준 시료가 없는 경우 flow FFF-MALS는 분자량 및 크기 분포를 분석할 수 있는 매우 유용한 방법이다.

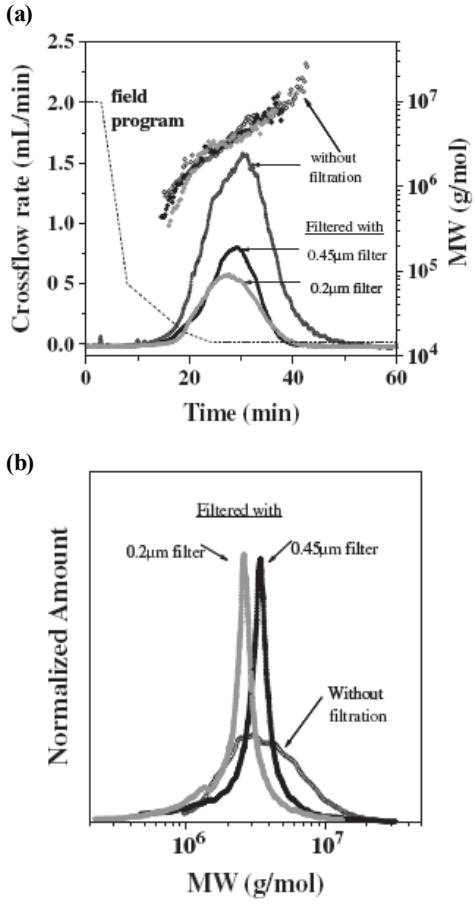

그림 9. Filtering에 의한 sodium hyaluronate의 변화 : (a) 용출 곡선(90° LS signal)과 용출시간에 따른 분자량, (b) 분자량 분포 곡선.

수 많은 고분자 물질을 flow FFF-MALS 시스템으로 분석한 사례가 보고되고 있는데, 그 중 sodium hyaluronate를 분석한 예[11-12]를 그림 9에 나타냈다. Sodium hyaluronate는 자연적으로 닭 벼슬이나 사람의 제대에 존재하는 매우 넓은 분자량 분포(10^5-10^8 g/mol)를 갖는 수용성 고분자이다. Sodium hyaluronate는 그 분자량에 따라 용도가 다르기 때문에 분자량을 조절하기 위한 연구가 꾸준히 진행되고 있으며 이에 따라 분자량 및 분자량 분포를 정확히 측정하는 것 또한 중요한 과정이다. 그리고 GPC로 분석하기에 10^8 g/mol은 exclusion limit에 해당하여 FFF 분석이 적합하다.

그림 9(a)의 용출곡선을 보면 채널에 주입하기 전에 0.45 ㎛, 0.2 ㎛로 거른 시료에서는 filter를 하지 않은 시료에 비해 광산란 신호가 크게 감소한 것을 알 수 있다. 하지만 분자량이 작아 filter에 걸리지 않고 FFF에 주입, 용출된 시간에서의 분자량은 세 시료에서 모두 동일하게 측정되었다.

이 결과로부터 시료를 filter하는 과정에서 초고분자량 부분이 손실된다는 것을 알 수 있으며 그림 9(b)의 분자량 분포 곡선에서 이를 한 번 더 확인할 수 있다. MALS와 RI 검출기를 통해 계산된 시료의 Mw 분자량은 filter 전에는 6.23×10^6 G/mol에서 0.45 ㎛ filter 후에는 3.55×10^6 G/mol, 0.2 ㎛ filter 후에는 3.10×10^6 G/mol으로 감소했다(표 2).

따라서 이론적인 exclusion limit 뿐 아니라 컬럼 보호를 위해 분석 전 시료의 filter 과정이 필수인 GPC에서는 sodium hyaluronate의 정확한 분자량을 구할 수 없는 반면 filter 과정이 필요 없는 flow FFF-MALS 시스템은 정확하게 고분자량의 sodium hyaluronate를 분석할 수 있음을 알 수 있다.

3.3 High Temperature Asymmetrical Flow FFF 를 이용한 고분자 분석

폴리올레핀 계통의 고분자는 분석에 있어서 크로마토그래피에 적용할 수 있는 용매 선택이 까다롭고 펌프부터 검출기까지 모든 기기가 고온을 유지해야 실험이 가능하다는 제약 조건이 있다. 고온 SEC(HTSEC)에 다양한 검출기를 연결하여 많은 분석이 이뤄짐에도 불구하고 상당부분 한계가 있다. 모든 고분자 소재가 그렇지만 폴리올레핀 또한 초고분자량 부분은 유변학적 특성에 의해 가공성에 큰 영향을 주기 때문에 이를 분석하는 것은 매우 중요하다. 따라서 최근 고온 asymmetrical flow FFF(HTAF4)를 infrared(IR), 다각도-

광산란 검출기(MALS), 그리고 점도 검출기(viscometer)와 online으로 연결하여 초고분자량의 polyethylene(PE) 시료 분석에 적용하는 사례[13]에 대한 보고가 나오고 있다.

그림 10은 NIST standard인 LDPE SRM 1476 물질을 HTAF4와 HTSEC로 분석한 그래프[14]이다. LDPE SRM 1476 은 가지가 형성되어 있는 low-density polyethylene으로 분석을 할 때 표준 참고 물질로 사용되는 시료이다. 컬럼 제조사마다 분자량 별로 적당한 분리능을 가진 컬럼을 제조하는데 고분자량 물질을 분석할 수 있는 컬럼 중 이 실험에서는 PLgel mixed A(20 ㎛, 7.5 mm×300 mm, Polymer Lab)와 PLgel mixed B(10 ㎛, 7.5 mm×300 mm, Polymer Lab) 컬럼을 사용했다. 제조사에서 제공하는 A와 B 컬럼의 선형구간은 각각 2×10^3 ~ 4×10^7 g/mol, 5×10^2 ~ 1×10^7 g/mol 이다. B컬럼으로 분석한 그림 10 (c)의 90° LS signal에서는 23분 부근에서 초고분자량 피크가 나타나지만 시료 농도에 비례하는 RI signal은 23분 부근에서 피크가 거의 나타나지 않으며, viscometer signal에서는 매우 작은 shoulder 피크가 검출된다. 분자량 분포를 보면 B 컬럼에서 분석된 이 시료의 가장 큰 분자량은 약 3.5×10^6 g/mol이다. B 컬럼보다 pore size가 더 큰 A 컬럼을 사용하여 분석한 (b) 결과에서는 초고분자량 피크 크기가 더 커졌으며, 최대 분자량은 약 1.4×10^7 g/mol이다. 반면에 HTAF4로 분석한 (a) 그래프에서는 A 컬럼으로 분석한 HTSEC에 비해서도 초고분자량 LDPE 물질의 분리와 검출이 크게 향상된 것을 알 수 있으며, HTAF4로 검출된 최대 분자량은 약 2.9×10^8 g/mol이다. 이 결과를 보면 HTSEC에서 초고분자량 시료들은 컬럼 내에서 shear degradation으로 인해 분자량이 감소한다는 것을 확인할 수 있다.

DeGroot와 Hamre 그룹[15]에서는 HTSEC의 유속을 감소시켜 분석한 경우에 초고분자량 부분의 피크가 증가하는 것을 확인하였는데 이는 shear degradation을 뒷받침하는 증거이다. 반면에 HTAF4에서는 정지상이 없는 빈 채널을 사용하기 때문에 shear degradation을 방지하기 위해 유속을 낮출 필요가 없으며, 유속을 낮추더라도 분석된 분자량 결과는 유속에 관계없이 일정하다.

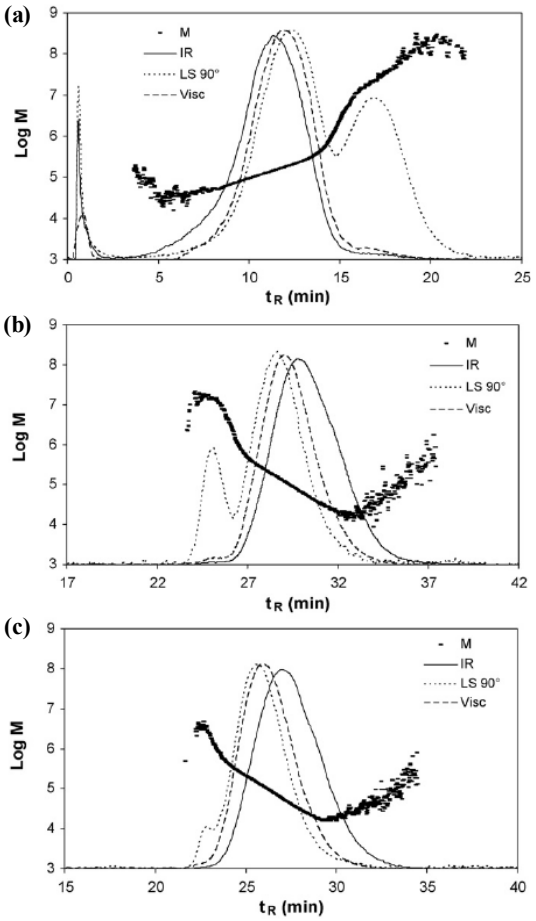

그림 10. SRM 1476의 용리 곡선과 분자량 분포 그래프 : (a) HTAF4, (b) HTSEC mixed A columns, (c) HTSEC mixed B columns.

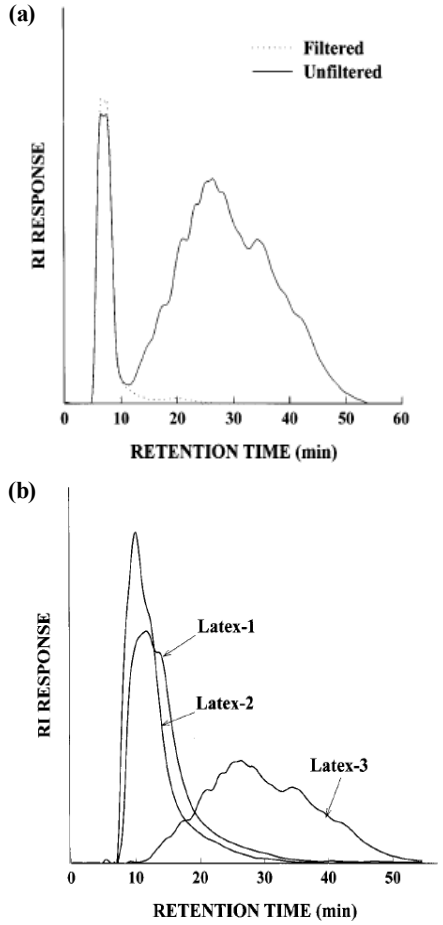

그림 11. Neoprene latex의 용리곡선 : (a) filer 전/후의 용리곡선, (b) 동일 함량의 microgel을 포함하는 세 종류의 Neoprene latex의 용리곡선.

3.4 Microgel을 포함하는 고분자 분석

Microgel을 포함하는 고분자 물질의 경우 microgel 함량이 그 고분자 물질의 물성을 결정하는 중요한 역할을 하기 때문에 microgel의 함량 분석이 중요하다. Microgel 함량을 결정하기 위해서 전통적으로는 중량법(gravimetric method)이 널리 이용되어 왔다. 중량법은 시료로부터 microgel을 추출하는 과정과 microgel의 건조, 정량 등의 과정을 거치기 때문에 측정 결과를 얻는데 평균 3일 정도가 소요된다.

Thermal FFF는 특별한 전처리 과정 없이 microgel을 포함하는 시료를 용매에 녹여 기기에 직접 주입하고 온도 구배에 의해 고분자와 microgel을 분리함으로써 쉽게 microgel 함량을 결정할 수 있다. 그림 11(a)는 microgel을 다량 포함하는 것으로 알려진 산업용 neoprene 라텍스의 thermal FFF 용리곡선이다. 거르기 전 시료는 가용성 성분이 10분 이내에 먼저 용리하고 그 후에 넓은 분포를 갖는 불용성 microgel이 용리하는 반면에 시료를 거른 후에는 microgel이 제거되어 10분 이내의 가용성 성분의 피크만 존재하는 것을 알 수 있다. 따라서 이 두 용리곡선의 면적 비를 계산하여 microgel의 함량을 결정할 수 있다. 그림 11(b)는 비슷한 microgel 함량을 갖지만 서로 다른 물성을 보이는 세 가지 neoprene 라텍스의 용리곡선이다. Microgel 함량은 비슷함에도 microgel의 용리 곡선 모양은 매우 다르게 나타났다. 즉, microgel의 함량이 동일하더라도 크기 분포가 다르면 서로 다른 물성을 보이기 때문에 microgel의 함량뿐 아니라 microgel의 크기 분포를 분석하는 것 역시 중요함을 알 수 있다. 이는 전통적인 중량법에서는 분석이 불가능한 정보이다.

3.5 Copolymer 및 Polymer Blend 분석

앞서 설명한 바와 같이 thermal FFF에서 고분자 시료의 머무름 시간은 열 확산계수 D_T와 확산계수 D에 의해 결정된다. 고분자의 확산계수 D는 고분자의 hydrodynamic diameter 혹은 분자량에 따라 결정되고 열 확산계수 D_T는 고분자의 화학적 조성에 따라 결정된다. 따라서 polymer blend나 copolymer를 thermal FFF로 분리하면 분자량뿐만 아니라 화학적 조성에 따른 분리도 동시에 가능하다. 이러한 현상은 비슷한 분자량을 갖지만 다양한 화학적 조성을 갖는 고분자 물질의 분석에 유리하다. 이미 polystyrene-polyisoprene block copolymer와 star[16-17]형 고분자, poly(styrene-*co*-methyl methacrylate)[16,18], poly(methyl methacrylate-*co*-butadiene)[19] 등 다양한 고분자 blend 및 copolymer 의 분리 및 분석에 적용된 사례가 보고되었다.

그림 12에 polystyrene–poly(*n*-butyl acrylate) copolymer (PS-*co*-PBA)[20]를 thermal FFF로 분석한 사례를 나타내었다. 그림 12(a)는 PS의 함량은 70 wt%로 동일하지만 분자량은 각각 31 kg/mol, 117 kg/mol으로 다른 두 종의 PS-*co*-PBA copolymer를 thermal FFF에서 분리한 용출곡선이다. 이 시료의 화학적 조성은 동일하므로 시료의 머무름 시간은 homopolymer와 마찬가지로 분자량에만 비례한다. 반면에 그림 12(b)는 서로 다른 PS-*co*-PBA 조성을 갖지만 분자량은 약 105 kg/mol으로 유사한 시료를 분석한 용출곡선이다. PS의 함량이 증가할수록 PS-*co*-PBA copolymer 시료의 머무름 시간은 증가하는 것을 알 수 있는데, 이는 polystyrene의 열 확산계수 ($\sim 1.6\times10^{-7}$ cm^2/sK in MEK)가 poly(*n*-butyl acrylate)의 열 확산계수 ($\sim 0.8\times10^{-7}$ cm^2/sK in MEK)에 비해 크기 때문이다.

4. 결론

본 문서에는 FFF의 작동 원리 및 flow FFF와 thermal FFF의 이론, 그리고 고분자에 대한 적용 사례에 대해 간략히 소개하였다. FFF는 컬럼을 사용하지 않고 속이 비어있는 채널을 사용하므로 시료의 shear degradation을 방지할 수 있

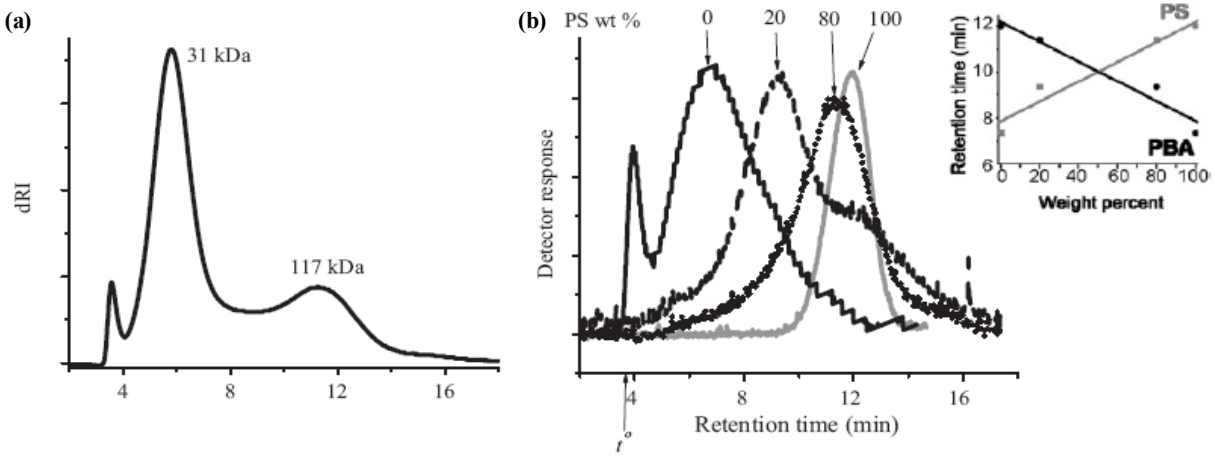

그림 12. (a) 동일 조성/다른 분자량의 PS–*co*–PBA 의 용출곡선, (b) 동일 분자량/다른 조성의 PS–*co*–PBA 의 용출곡선.

으며 filter 과정이 필요 없기 때문에 완전히 녹지 않는 시료를 분석할 수 있다. 또한 외부장의 세기를 필요에 따라 조절하여 시료의 머무름을 쉽고 빠르게 조절할 수 있는 분리 방법이다. 따라서 앞으로는 학계뿐만 아니라 산업계에서도 FFF를 이용한 분석이 더욱 활발히 적용될 것으로 기대된다.

참고문헌

1. J. C. Moore, *J. Polym. Sci. A*, **2**,835 (1964).
2. J. C. Giddings, *Sep. Sci.*, **1**, 123 (1966).
3. J. C. Giddings, *Science*, **260**, 1456 (1993).
4. M. N. Myers, *J.Microcol. Sep.*, **9**, 151 (1997).
5. M. E. Schimpf, *Field-flow fractionation handbook*, New York, Wiley, 2000.
6. J. Chmelik , *J. Chromtogr. A*, **845**, 285 (1999).
7. S. Lee, *Microcol. Sep.*, **9**, 281 (1997).
8. S. K. R. Williams, *Prog. poly. Sci.*, **34**, 351 (2009).
9. M. H. Moon, *J. Chromatogr. A*, **955**, 263 (2002).
10. H. Pasch, *Macromol.*, **45**, 5247 (2012).
11. M. H. Moon, *J. Sep. Sci.*, **33**, 3519 (2010).
12. S. Lee, *J. Sep. Sci.*, **33**, 3530 (2010).
13. M. E. Schimpf, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **25**, 2101 (2002).
14. E. P. C. Mes, *J. Chromatogr. A*, **1154**, 319 (2007).
15. A. W. De Groot, *J. Chromatogr. A*, **648**, 33 (1993).
16. M. E. Schimpf, J.C. Giddings, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.*, **28**, 2673 (1990).
17. M.E. Schimpf, *Chromatography of Polymers*, ACS, Washington, D.C., 1993.
18. C. Van Batten, *Chromatographia*, **45**, 121 (1997).
19. A.C. Van Asten, *J. Chromatogr. A*, **703**, 245 (1995).
20. S.K.R. Williams, *J. Chromatogr. A*, **1218**, 6774 (2011).