

HPLC를 이용한 합성 고분자의 분석

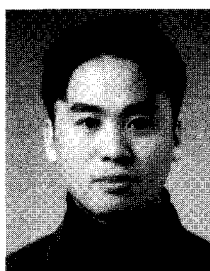
이 원 목 · 조 동 현 · 장 태 현

1. 서 론

오늘날 고분자 재료는 철강 재료를 앞질러 지구상에서 사용되는 제일 많이 사용되는 재료이며, 매우 다양한 고분자 물질이 개발되어 생산되고 있다. 고분자 물질은 생산 과정에서 최종 용도에 따른 최적의 물성을 이끌어내기 위하여 분자수준의 특성이 조절된다. 단일중합체의 경우 분자량 및 분자량분포, 공중합체는 이에 덧붙여 단량체들의 배열순서 및 화학조성 분포가 고분자 재료의 최종물성에 결정적인 영향을 미치게 된다. 나아가, 곁가지를 가진 고분자 (branched polymer), 말단기에 기능성 치환기를 가진 고분자 (telechelic polymer) 등 분자구조의 측면에서도 다양한 변화가 이루어지고 있다. 이러한 합성 고분자 재료의 다양한 분자특성을 정밀하게 분석하기 위해서는 여러 가지 화학분석법의 적절한 활용이 요구된다.

일반적인 정량분석법들은 합성 고분자와 같이 분

자량, 화학조성 등이 다른 물질들의 집합인 경우 평균 성질만을 제공하게 된다. 고분자의 분자량 분석법 중 점도법, 광산란법, 삼투압법 등이 그러한 예이다. 그러나 시료 중에 성질들의 분포가 관심의 대상이 되는 경우, 원하는 분자특성에 따라 분리하고 정량하는 방법을 택하여야 하며, 화합물의 분리 방법 중 가장 흔히 사용되는 크로마토그래피 방법이 고분자의 분석에 있어서도 가장 많이 사용된다. 고성능 액체 크로마토그래피 (high performance liquid



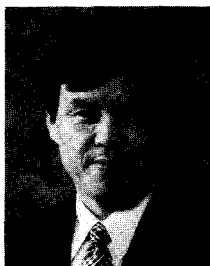
조동현

1999 부산대학교 화학과 (이학사)
1999~ 포항공과대학교 화학과 박사과정
현재



이원목

1995 포항공과대학교 화학과 (이학사)
1997 포항공과대학교 화학과 (이학석사)
1997~ 포항공과대학교 화학과 박사과정
현재



장태현

1975 서울대학교 화학과 (이학사)
1979 공군사관학교 교수부 교관
1984 Univ. of Wisconsin 화학과 이학박사 (Ph. D.)
1985 Univ. of Wisconsin 화학과 Research Associate
1986 National Bureau of Standards, Guest Scientist
1986~ 한국화학연구소 고분자연구부 선임연구원
1988 포항공과대학교 화학과 교수
현재

Characterization of Synthetic Polymers by HPLC

포항공과대학교 화학과 (Wonmok Lee, Dong Hyun Cho, and Taihyun Chang, Department of Chemistry, Pohang University of Science and Technology, Pohang 790-784, Korea)

chromatography, HPLC)는 시료를 컬럼을 통해 용출하여 원하는 특성에 따라 분리한 후, 분리된 시료들을 다양한 검출기법(분광법, 광산란법, 점도법, 질량분석법 등)을 사용하여 분석함으로써 합성 고분자에 존재하는 여러 가지 성질의 분포 분석에 있어 매우 유용하게 사용된다.¹⁻³ HPLC 방법 가운데, 크기배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography, SEC 또는 gel permeation chromatography, GPC)가 고분자의 분자량분포 분석에 전통적으로 가장 널리 활용되어 왔다.^{1,3} SEC는 보다 효율적인 정지상(stationary phase) 및 새로운 검출방법이 계속 개발되면서 고분자의 분자량분포 분석에 있어 강력한 도구로서 그 위치를 유지할 것으로 전망되나, 분리 메커니즘의 특성상, 고분자를 단순히 유체역학적 크기에 따라 분리하므로 고분자의 화학적 불균일성(공중합체의 조성 분포, 미세구조 차이, 말단기 차이 등)을 분석하는 데에는 쓸모가 없다. 이러한 분석을 위해서는 시료와 정지상 간의 열역학적 상호작용을 분리에 사용하는 상호작용 크로마토그래피(interaction chromatography, IC)가 효율적이며(통상 작은 분자를 분석하는데 사용하는 HPLC는 이 방법이다), 고분자 분석에도 널리 활용되어 왔다.^{2,4,5} 본 연구실에서는 SEC와 IC를 이용한 공중합체의 분석법에 대한 총설을 2회에 걸쳐 본 학회지에 발표한 바 있다.^{6,7} 본 총설에서는 복잡한 고분자 시료를 분리하는데 활용되는 다양한 크로마토그래피 분리기법과 함께, 최근 개발된 분광학적 검출기법들을 소개하고자 한다.

2. 본 론

2.1 상호작용의 세기에 의한 HPLC 분리 방법의 분류

컬럼 크로마토그래피는 다공성 충전물로 구성된 정지상 및 이동상(mobile phase) 용매 사이에서 일어나는 시료의 분포평형(distribution equilibrium)에 의하여 분리가 이루어진다. 고분자 시료의 머무름 부피(retention volume, V_R)는 다음 관계식을 따르는 것으로 알려져 있다.⁵

$$V_R = V_O + V_P \cdot K_{SEC} + V_S \cdot K_K \quad (1)$$

여기서 V_O 는 정지상을 이루는 입자들 사이의 부

피(interstitial volume), V_P 는 공동의 부피(pore volume), V_S 는 정지상의 부피를 의미한다. 고분자의 머무름은 두 가지의 평형상수에 의하여 결정된다. K_{SEC} 는 크기배제 효과에 의한, 즉 고분자 사슬의 유체역학적 크기에 의해 다공성 정지상의 공동에 분포되는 정도를 나타내며, K_K 는 상호작용에 의한, 즉 정지상에 분배(partition) 또는 흡착(adsorption)되는 메커니즘에 의한 시료의 분포 평형상수를 나타낸다. 두 평형상수는 다음과 같은 식으로 나타내어진다.

$$K_{SEC} = c_p/c_o, K_K = c_s/c_m \quad (2)$$

여기서 c_p , c_o , c_s , c_m 은 각각 공동, 입자간 부피, 정지상, 이동상을 나타낸다. 작은 분자들의 크로마토그래피 분리와 같이 크기배제 효과가 완전히 없어지는 경우, K_{SEC} 는 1이 되며 이동상의 부피, V_m 은 V_o 와 V_p 의 합이므로, 식 (1)은 보통 HPLC의 관계식으로 바뀌게 된다.

$$V_R = V_m + V_S \cdot K_K \quad (3)$$

이와는 달리 상호작용이 전혀 없이 크기배제에 의하여 분리가 일어나는 경우, K_K 는 0이 되며 고분자 과학자들에게 친숙한 다음과 같은 SEC의 관계식이 된다.

$$V_R = V_O + V_P \cdot K_{SEC} \quad (4)$$

K_{SEC} , K_K 모두 다음과 같은 평형상수의 열역학적 관계식을 따른다.

$$K = \exp(-\Delta G^0/RT) = \exp(\Delta S^0/R - \Delta H^0/RT) \quad (5)$$

여기서 ΔG^0 , ΔS^0 , ΔH^0 는 각각 용질이 이동상에서 정지상으로 분포될 때의 표준 Gibbs 자유에너지, 표준 엔트로피, 표준 엔탈피의 변화를 나타낸다. 고분자 시료는 실험 조건(이동상, 정지상, 온도 등)에 따라 K_{SEC} 및 K_K 가 변화하며, 단일 중합체의 분자량에 대한 머무름 부피의 변화는 그림 1과 같이 일반적으로 도식화할 수 있다. 즉, 동일한 정지상 조건 하에 시료와 정지상 사이의 상호작용이 변화할 때 분자량에 따른 시료들의 머무름 부피는 그림 1의 세가지 곡선과 같은 전형적인 형태를 가지

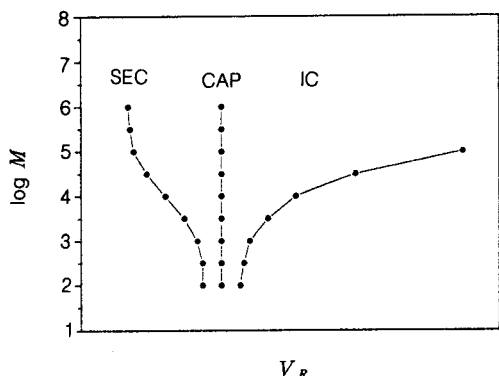


그림 1. 고분자 시료의 분자량에 따른 머무름 부피의 변화.

게 된다. 원편에 나타난 곡선은 크기배제 메커니즘에 의한 분리작용이 상호작용 메커니즘에 비하여 클 경우로서, 시료의 정지상과의 상호작용이 작을 때 관찰된다. 정지상과의 상호작용이 전혀 없어 $K_{IC}=0$ 이 되는 경우가 이상적인 SEC 분리 메커니즘을 나타낸다. 이러한 이상적인 크기배제 메커니즘이 작용하는 경우, K_{SEC} 는 식 (5)에서 엔탈피의 기여도가 없이 순수한 엔트로피의 함수가 된다. 즉 고분자가 공동 속으로 분배될 때, 작은 공동 속에서 취할 수 있는 사슬의 형태에 제약이 생기므로 형태 엔트로피 (conformational entropy)가 감소하게 되며, 분자량이 클수록 엔트로피의 감소가 더 커지게 된다(이는 사슬의 크기가 커지면 공동 속으로 들어가기 어려워져 크기에 의한 배제효과가 생긴다는 이야기와 동일하다). 따라서 분자량이 커짐에 따라 K_{SEC} 가 작아져 머무름이 작아지게 되며 따라서 분자량에 따른 (엄밀하게 이야기하면 사슬의 크기에 따른) 분리가 일어나게 된다. 따라서 SEC를 이용한 고분자의 분자량에 따른 분리를 최적화하려면 정지상과 고분자 시료 사이의 상호작용을 최소화하여야 한다. 일반적으로 고분자의 좋은 용매(good solvent)가 이러한 조건을 만족시키며, 충전물의 표면이 상호작용을 최소화할 수 있는 비극성 표면이 유리하다. 보통 유기용매를 사용하는 합성 고분자의 경우, 다공성 스티렌 겔(styrene gel)이 널리 사용되고 있다.

정지상과 시료의 상호작용이 강하여 K_{IC} 가 K_{SEC} 보다 머무름에 더 큰 영향을 끼치게 되면, 고분자의 분자량과 머무름 부피의 관계는 그림 1의 오른쪽과 같은 곡선의 형태를 가지게 된다. 고분자와 정지상과의 상호작용은 분자량에 비례하여 증가하게 된다(Martin's rule).² 식 (5)에서 알 수 있는 바와 같이

K_{IC} 가 분자량의 멍함수(power function)로 증가하므로 등온, 등용매(isocratic) 조건에서는 분자량에 따른 시료의 머무름의 범위가 너무 커져 현실적으로 분리가 어렵게 된다. 따라서 실험도중 K_{IC} 의 크기를 조절하여 넓은 분자량분포의 고분자들을 용출시킬 수 있는데, 이를 위하여 용매 기울기 용출법(solvent gradient elution)이나 온도 기울기 용출법(temperature gradient elution)이 흔히 사용된다.^{4,8-20} 용매 기울기 용출법이란 시료의 주입 후 이동상 용매의 조성을 변화시켜 시료의 K_{IC} 를 조절하는 방법으로 실제로 HPLC에서 가장 흔히 사용되는 머무름 조절 방법이다.^{4,8-14} 용매 기울기 용출법은 고분자 분석에 있어 특히 공중합체의 조성분석 연구에 많이 활용되었는데, 70년대 후반, Teramachi 등이²¹ 조성비가 서로 다른 스티렌/메틸아크릴레이트 랜덤 공중합체를 용매 기울기 용출법으로 분리하는 데 성공한 이후, 랜덤 공중합체의 CCD 분석에 관한 많은 연구가 발표되었다.^{4,22,23} 단일중합체의 분자량에 따른 용매 기울기 IC 분리는 역시 1970년대 초, Inagaki 등이 박막 크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC)를 이용하여 분리에 성공한 후,²⁴ 1980년대 초 Armstrong 등이 역상(reversed phase) HPLC로 고분해능 분리에 성공하면서 발전되었다.^{9,25} 그림 2는 폴리스티렌 표준시료의 넓은 분자량 범위에서의 용매 기울기 용출법을 이용하여 분자량별 분리를 나타낸 크로마토그램이다.²⁶ 정지상으로는 역상칼럼(μ -Bondapak C18, 3.9 mm ID, 100 Å)을 사용하였으며 이동상으로는 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ 를 그림 2에 표시된 용매 조성 프로그램과 같이 이용하였다. 그림에서 보듯이 분자량이 증가하는 순으로 PS가 용출됨을 알 수 있다. 그리고 초기 이동상의 조성을 PS에 대하여 비용매인 CH_3CN 를 많이 함유하도록 함으로써 PS 올리고머의 반복단위의 개수에 따른 분리가 가능하다. 그리고 적절한 용매 조성 프로그램을 사용하면 분자량이 높은 범위까지 분리할 수 있음을 알 수 있다. 사용된 PS 표준시료의 평균분자량은 제일 먼저 용출되는 올리고머가 3,500이며 제일 나중 용출되는 것이 929,000이다. 그러나 용매 기울기 용출법을 사용할 경우, 바탕신호의 변화(baseline drift)에 의하여 크로마토그래피 검출기로 가장 널리 이용되는 굴절률 검출기, 광산란 검출기를 사용할 수 없다는 단점이 있으며, 고분자 시료의 머무름이 용매의 조성에 워낙 민감하게 변화하여 재현성에 어려움이 있다.²⁰

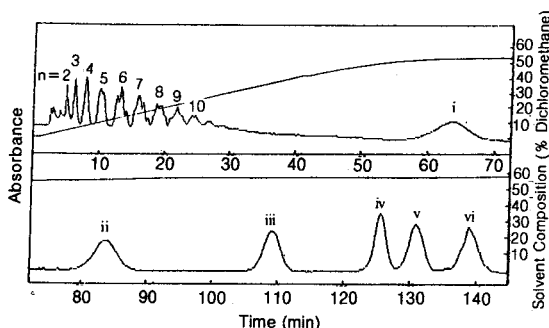


그림 2. 용매 기울기 용출법으로 분리한 PS 표준시료 혼합물의 크로마토그램 (표준시료의 질량 평균 분자량 (M_w); Oligomer: 3,600, i: 17,200, ii: 50,000, iii: 110,000, iv: 200,000, v: 410,000, vi: 919,000).

이에 반하여 온도 기울기 용출법은 등용매 조건 하에 칼럼의 온도를 시간에 따라 변화시킴으로써 시료의 머무름을 조절하는 방법이다. 폴리올레핀의 분석에 많이 사용되는 TREF(temperature rising elution fractionation)가 온도 기울기 용출법의 활용 예의 하나라고 할 수 있는데, 칼럼의 충전물 표면에 침전시킨 고분자를 온도를 높이면서 용출시키는 방법이다.²⁷⁻³¹ 폴리올레핀은 겔까지의 함유도에 따라 온도에 따른 용해도가 달라 TREF에서 이에 의한 분리가 이루어지는데 이 경우 칼럼의 충전물은 침전된 시료의 지지체 역할만 하게 되며 정지상으로서의 화학적인 역할은 하지 않아 엄밀한 의미에서 크로마토그래피라고 할 수 없는 방법이다. TGIC(temperature gradient interaction chromatography)는 고분자 시료와 정지상 사이의 열역학적 상호작용을 온도로 조절하는 방법으로써, 최근에 본 연구실에서 개발되었다.^{15-18,20} 식 (5)에서 볼 수 있는 바와 같이 용질의 분배에 엔탈피 변화가 수반되는 경우, 온도에 따라 분포계수가 변화하게 된다. Lee 등은 TGIC의 높은 분리능을 이용하여 음이온 중합 고분자의 분자량 분포, 겔사슬을 가진 고분자의 정확한 분석을 수행하였다.^{15,17,18,32-35} 용매 기울기 용출법에 비하여 온도는 보다 정밀하게 조절될 수 있으며, 굴절률의 변화도 상대적으로 작고 또한 검출시 온도를 다시 조절할 수 있으므로 굴절률 검출기나 광산란 검출기를 사용할 수 있다는 장점이 있다.

그림 1에서 SEC와 IC 사이에 존재하는 수직선, 즉 고분자 시료가 분자량에 무관하게 일정한 머무름 부피를 가지는 조건을 임계조건(critical adsorption point, CAP)이라 한다. CAP는 K_{SEC} 와 K_{IC} 에 의

한 용질의 분자량에 따른 머무름 효과가 서로 정확하게 상쇄되어 고분자의 분자량별 분리가 사라지는 조건이다(분자량에 따른 머무름의 정도는 크기배제 메커니즘과 상호작용 메커니즘에서 서로 반대임을 기억하라). 이러한 조건을 만족하는 고분자는 머무름의 분자량 의존도가 없기 때문에 크로마토그래피 분리상으로 “투명(invisible)”하다고 볼 수 있으며 이러한 성분이 포함된 고분자 혼합물 및 블록 공중합체의 분석에 유용하게 응용될 수 있다. 임계조건 크로마토그래피(liquid chromatography at critical adsorption point, LC-CAP)는 Entelis, Gorshkov 등에 의해 처음 실험적으로 개발된 이후, Gorbunov 등에 의해 이론적인 발전이 이루어졌다.³⁶⁻³⁹ 그 후 많은 연구팀에서 LC-CAP를 실질적인 고분자 분석에 응용하였다.^{5,36} 특히 Pasch 등은 LC-CAP를 이용하여 다양한 고분자 블렌드 및 블록 공중합체의 분석을 수행하였다.⁴⁰⁻⁴⁴ LC-CAP는 또한 말단기가 다른 고분자나 고리모양(cyclic) 고분자의 분리/분석에도 매우 유용하다.^{37,45,46} 이상과 같이 고분자 시료를 분리하기 위한 HPLC 분석법은 시료와 정지상 사이의 흡착 상호작용의 세기에 따라 SEC, IC, LC-CAP의 세가지 방법으로 분류될 수 있으며 이러한 방법의 응용 예에 대해서 알아보겠다.

2.2 음이온 중합된 단일 고분자의 분리 및 분자량 분포 분석

음이온 중합법은 1950년대 Szwarc에 의해 합성법이 체계적으로 확립된 이후⁴⁷ 여러 가지 유용한 고분자를 만드는데 활용되어 왔으며, 특히 매우 좁은 분자량 분포를 가지는 단일 고분자 및 블록 공중합체의 합성에 매우 유용한 방법으로 알려져 있다.⁴⁸⁻⁵² 음이온 중합법으로 합성된 단일 고분자의 분자량 및 분자량분포(M_w/M_n)는 대부분 SEC 방법으로 분석된다. 즉, 분자량이 잘 정의된 표준시료 혼합물을 SEC에 주입하여 각 용출부피에 해당하는 분자량을 알아낸 후, 미지시료의 SEC 크로마토그램을 얻으면 시료의 용출부피를 분자량으로 환산할 수 있다. 이와 같은 방법이 표준 검정법(standard calibration)이며, 실험적으로 음이온 중합 고분자의 M_w/M_n 측정값은 대체로 1.01~1.10 정도의 수치를 나타낸다.⁵³ 그러나 Flory의 이론적 연구에 의하면 이상적인 음이온 중합(부반응이 존재하지 않고, 개시반응이 중합반응속도 보다 큰 경우)에 있어, 중합도(degree of polymerization, DP)가 클 경우 M_w/M_n 은 $1 + 1/DP$ 에 수렴하게 되며⁵⁴ 중합도가 100 이상인 고분

자는 이론적으로 1.01 이하의 분포를 나타내야 하므로 SEC의 측정 결과와는 차이를 나타내게 된다. 최근 크로마토그래피 분석법의 발전에 의해 이와 같이 SEC로 측정된 M_w/M_n 의 신빙성에 의문이 제기되기 시작하였다. Gidding 그룹은 장흐름 분획법(field flow fractionation, FFF) 실험을 통하여,⁵⁵ Shortt와 Wyatt 등은 SEC에 연결된 다각도 광산란 검출기(multi-angle laser light scattering detector, MALLS)로 측정한 관성회전반경(radius of gyration, R_g)의 분포에 의하여 음이온 중합된 폴리스티렌(PS)이 SEC로 측정한 것에 비하여 더 좁은 분자량분포를 가짐을 보고하였다.^{56,57} 최근에 본 연구실에서는 온도 기울기 용출법인 TGIC를 이용하여 음이온 중합된 PS,^{15,32,33} 폴리이소프렌(polyisoprene, PI),³⁴ 폴리메틸메타크릴레이트(poly(methylmethacrylate), PMMA)의¹⁸ 분자량 분포를 정밀하게 측정하였다. 한 예로서 **그림 3**은 TGIC를 이용하여 음이온 중합된 PS 표준시료 14개를 분리한 것이다. 정지상으로는 역상칼럼(Nucleosil C18 2.1 mm ID, 100 Å)을 이용하였고, 이동상으로는 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}=57/43(\text{v/v})$ 을 사용하였다. 이런 이동상 조성에서는 PS는 IC영역에서 용출되며 적절한 온도 프로그램을 사용하여 분자량이 낮은 영역에서부터 높은 분자량 영역까지 높은 분리능으로 분리됨을 알 수 있다. 앞서 언급했듯이 음이온 중합 고분자의 SEC에 의한 분자량분포는 실제분포 보다 과장된 값을 주지만, TGIC를 이용한 분자량분포 분석결과 Flory가 예측한 이론 값에 매우 가까운 분포를 나타냄을 확인하였다.³⁵

2.3 단일고분자의 미세구조 및 말단기 분석

단일고분자는 분자량분포 이외에도 중합조건에 따라 다양한 미세구조 및 말단기의 분포가 존재한다. 고분자 사슬에서 미세구조 및 말단기의 차이는 HPLC에서 정지상과의 상호작용 차이를 발생시켜 시료의 머무름이 변화하게 된다. 초기의 연구 예로 Inagaki 등은 실리카 겔과 여러 가지 극성 용매를 이용한 TLC를 사용하여 i-PMMA(isotactic PMMA)와 s-PMMA(syndiotactic PMMA)를 처음으로 분리하였다.^{24,58} Sato 등은 tacticity가 서로 다른 PMMA를 다양한 정지상과 이동상의 조합을 이용한 용매 기울기 HPLC로 분리하였다.⁵⁹ Berek 등은 음이온중합 과정의 개시제 및 온도를 조절하여 분자량분포가 좁고 isotactic 분율과 syndiotactic 분율이 90% 이상인 PMMA를 각각 합성하여 LC-

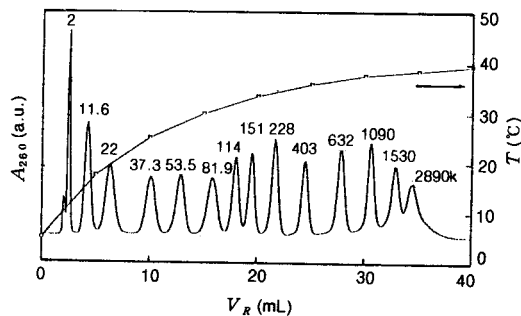


그림 3. 온도 기울기 용출법으로 분리한 PS 표준시료 혼합물의 크로마토그램.

CAP 방법으로 분리하였다.⁶⁰ 즉, 실리카 칼럼을 이용한 순상 HPLC 시스템에서 THF/n-hexane(83.2/16.8) 이동상 용매 조건 하에 s-PMMA의 입체조건이 형성되고 이때 i-PMMA는 SEC 메커니즘으로 용출되는 것을 이용하여 tacticity 차이에 따른 PMMA 시료의 분리를 수행하였다. 한편, 최근에 개발된 분광학적 검출기법을 이용하여 분리와 동시에 tacticity의 online 분석이 가능해졌다. Kitayama 등은 최근 tacticity가 매우 다른 poly(ethyl methacrylate) (PEMA)를 여러 종류 합성한 후 입체조건 크로마토그래피 즉 LC-CAP를 이용하여 시료들을 tacticity 별로 분리하고 분리와 동시에 online-NMR 검출법으로 시료의 tacticity 분포를 분석하였다.⁶¹ **그림 4**는 분자량은 거의 동일하고 tacticity가 서로 다른 4 종류의 PEMA의 LC-CAP 크로마토그램으로서, online-NMR 검출법을 통해 분석된 triad 분포가 함께 도시되었다. 그림으로부터 i-PEMA가 가장 먼저 용출되고 s-PEMA가 나중에 용출됨을 확인할 수 있다. Lewis 등은 음이온 중합법으로 합성된 스티렌 올리고머의 분리 실험을 통해 acetonitrile이 포함된 이동상 용매와 C18 정지상 조건 하에, 스티렌 올리고머의 입체구조에 따라 이성질체(diastereomer)의 미세 분리가 일어남을 관찰하였다.⁶² 즉, **그림 5**에 나타난 바와 같이, 평균분자량이 800 g/mol인 스티렌 올리고머를 분리할 경우 올리고머가 중합도 별로 분리되는 동시에 trimer는 2개, tetramer는 최소 4개의 봉우리로 다시 분리되었다. 그림으로부터 trimer는 최소 2개의 이성질체가 존재하며 tetramer는 4개 이상의 이성질체가 존재함을 알 수 있다. **그림 5(A)**와 **(B)**는 용매기울기 프로그램을 달리하여 각각 얻은 크로마토그램들이다. 그들은 또한 이러한 입체 이성질체의

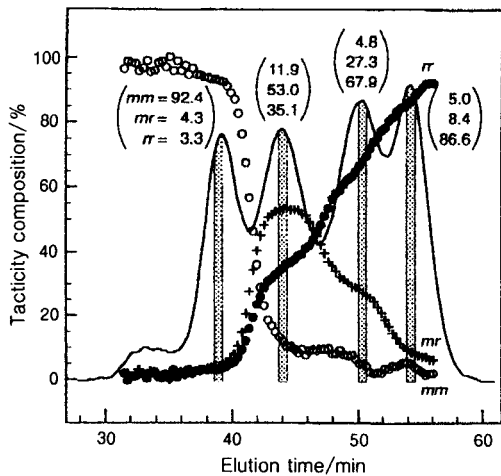


그림 4. Tacticity가 서로 다른 PEMA의 LC-CAP 크로마토그램 (online-NMR 검출신호의 α -CH₃ proton 공명으로부터 구해진 각 분액의 triad 분포가 함께 도시되었다.; mm(○), rr(●), mr(+)).

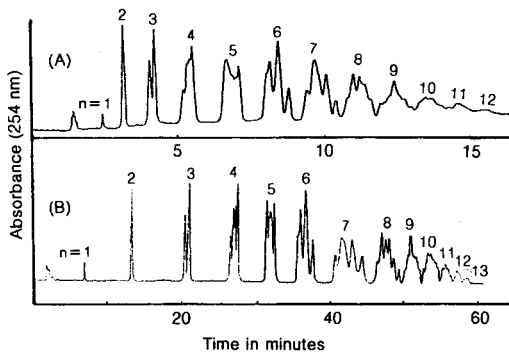
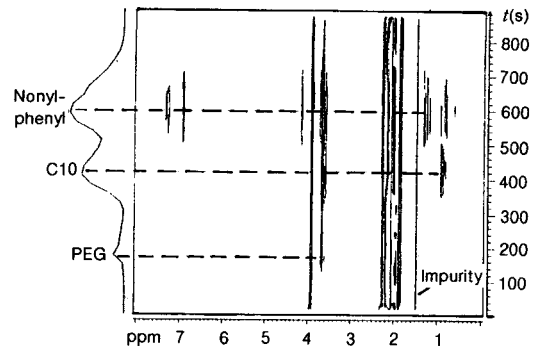


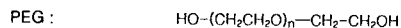
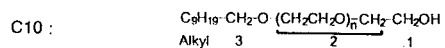
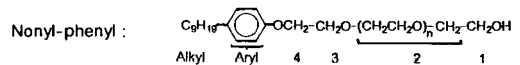
그림 5. 용매 기울기 용리법으로 분리한 PS올리고머 ($M_w=800$)의 크로마토그램.

분리가 이동상에 따라 크게 다름을 발견하였고 propylene carbonate를 이동상으로 이용하면 이러한 이성질체의 분리에 있어서, 가장 높은 분리능을 얻을 수 있음을 보고하였는데 이동상에 따라 왜 이러한 차이가 생기지는 아직 잘 규명되지 않고 있다.

다양한 크로마토그래피 방법으로 말단기 분포에 따른 용출거동의 차이를 이용하여 시료를 분리한 많은 연구 예가 있다.^{45,63-70} 특히 임계조건을 이용한 LC-CAP가 말단기에 따른 분리에 매우 효율적인 것으로 밝혀졌다.^{45,63,69} 한편, 앞서 tacticity 분석에서 보였듯이 분광학적 검출기법을 이용하여 분리와 동시에 시료의 분자구조를 판명할 수 있게 되었다. Schlotterbeck 등은 다양한 말단기가 존재하는 저 분자량 fatty alcohol ethoxylate를 D₂O/aceto-



(a)



(b)

그림 6. (a) Alcohol ethoxylate 혼합물의 굴절을 검출 신호 및 HPLC-NMR contour plot. (b) Online-NMR로 분석한 alcohol ethoxylate 혼합물의 구조.

nitrile 혼합용매 이동상 하에서 분리하고 on-line NMR 검출기법을 이용하여 각 용출액의 chemical shift를 동시에 측정, 분석함으로써 칼럼을 통해 용출된 분액들의 정확한 구조분석을 분리와 동시에 수행하였다.⁷¹ 그림 6(a)는 굴절을 검출기를 통해 검출된 시료의 크로마토그램 및 동시에 얻은 NMR 스펙트럼을 나타낸 것으로, 세 용출분우리의 NMR 스펙트럼을 분석하여 그림 6(b)와 같은 구조임을 판명하고 EO(ethylene oxide) 반복단위의 개수가 각각 4, 9, 9임을 계산하였다. 앞서 언급한 TGIC 역시 말단기 차이에 따른 고분자 시료의 분리에 효율적으로 활용될 수 있다. Lee 등은 실리카 칼럼 및 i-octane/THF 이동상 용매를 이용한 순상(normal phase) TGIC를 통해 분자량은 동일하고 단지 말단기만이 proton과 hydroxyl기로 서로 다른 고분자량 (>100,000 g/mol) PS들을 완전히 분리하는데 성공하였다.⁷² 이러한 분리는 시료 말단기의 극성 차이에 의해 일어나므로 극성 정지상을 이용하는 순상 시스템을 적용할 경우에만 효율적인 분리가 일어남을 확인하였다. 크로마토그래피 방법 이외에도, 최근 고 분자 분자량 분석에 많은 각광을 받고 있는 MALDI

(matrix assisted laser desorption ionization) 질량분석법의 우수한 질량 분해능을 이용하면 말단기의 미세한 질량차이를 질량 스펙트럼상에서 볼 수 있으며 분자량으로부터 말단기 구조를 쉽게 예측할 수 있다.⁷³

2.4 고분자 혼합물의 분리 및 분석

화학적으로 서로 다른 고분자들의 혼합물인 고분자 블렌드 시스템을 성분별로 분리하고 분석하는 데에도 HPLC 방법이 매우 효율적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 분자량이 매우 다른 고분자들의 혼합물의 경우, 기존의 SEC를 이용하여 쉽게 분리할 수 있다. 그러나, 대부분 혼합된 고분자들의 분자량이 유사하거나 분포가 넓어 SEC에 의한 분리가 완벽히 일어나지 않으므로 단순한 SEC로는 각 성분별 분석이 곤란한 경우가 대부분이다. 이러한 경우 이성분 고분자 혼합물에서 각 성분의 서로 다른 검출특성을 이용하면 성분별 분석이 가능하다. Lee와 Chang은 PS와 PMMA의 검출특성 차이를 이용하여, 광산란 검출기, 자외선 흡광 검출기, 굴절률 검출기의 동시 검출을 통해 SEC 칼럼에서 용출된 PS/PMMA 혼합물의 각 성분별 분자량분포를 분석하였다.⁷⁴ 한편 SEC가 아닌 다른 HPLC 기술을 이용하여 각각의 성분을 분리하는 것이 더욱 유리한 경우가 많다. Berek 등은 실리카 입자로 충전된 FAD(full adsorption desorption) 칼럼과 유기 고분자젤로 이루어진 기존의 SEC 칼럼을 조합하여 PS와 PMMA의 혼합물을 분리하고 각각의 분자량 분석을 수행하였다.⁷⁵ 즉, **그림 7**과 같은 장치를 이용하여 v1 (valve 1)을 통해 톨루엔을 먼저 흘려주면서 PS/PMMA 혼합물을 주입하면 상대적으로 극성이 강한 PMMA는 FAD 칼럼에 완전히 흡착되는 반면에 PS는 흡착되지 않고 그대로 통과하여 SEC 칼럼에서 분자량별 분리가 수행된다. 이렇게 먼저 PS의 분자량 분석을 수행한 후, v1을 통해 극성용매인 THF로 이동상을 바꾸면 PMMA가 FAD에서 탈착되어 SEC 칼럼으로 들어가게 된다. 이때 PMMA의 빠른 흡/탈착을 위해 공동이 없는 실리카를 매우 작은 크기의 FAD 칼럼에 충전하여 준다. 흡/탈착 과정이 느리게 일어나면 SEC칼럼으로 모든 PMMA 시료가 동시에 주입되지 않으므로 심각한 락트럼 현상이 일어나게 된다. 이와 같은 방법은 이성분 고분자의 분리 및 분자량 분석을 수행할 수 있는 반면, 실험 도중에 이동상 용매를 바꿔야 하므로 과정이 번거로운 단점이 있다. Pasch 등은 앞에서 언급한

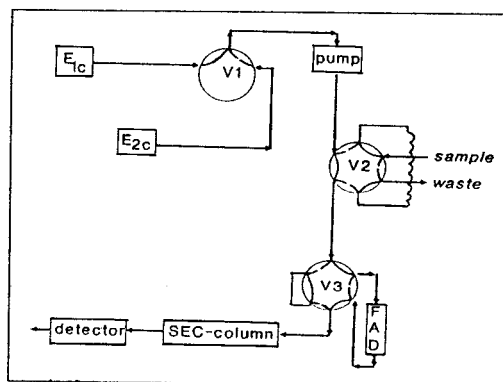


그림 7. FAD (full adsorption desorption) - SEC 실험 장치의 개략도.

LC-CAP를 이용하여 역시 PS/PMMA의 혼합물을 동시에 분리하였다.⁴¹ 즉, 실리카 칼럼과 MEK/cyclohexane(73/27) 혼합용매를 각각 정지상과 이동상으로 사용할 경우 상온에서 PMMA는 임계조건에 해당하며, 같은 조건에서 PS는 정지상과의 상호작용이 작아 SEC영역에서 용출된다. 이러한 특징을 이용하여 분자량별 혼합물을 **그림 8**과 같이 분리하였다. 이러한 실험에서는 한번의 시료주입으로 혼합물을 분리하게 되는 장점이 있는 반면 오로지 PS의 분자량별 분석만이 가능하다는 단점이 있다. 최근 Chang 등은 SEC와 TGIC를 동시에 응용하여 PS/PMMA, PS/PI, PMMA/PI 등의 다양한 이성분 혼합물을 분리하고 동시에 각각 분자량 분석하였다.^{16,20,34} **그림 9**는 공동크기가 다른 세 종류의 C18 bonded silica 칼럼을 연결한 후 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (80/20) 혼합용매를 이동상으로 하여 칼럼 온도를 조절하면서 PS/PI(**그림 9(a)**) 및 PMMA/PI(**그림 9(b)**) 표준시료 혼합물들을 각각 SEC 및 TGIC로 동시에 분자량별 분리한 예이다.³⁴ 이때 앞서 SEC로 용출되는 PS나 PMMA는 분자량의 역순으로 용출되는 반면 IC 영역에서 용출되는 PI는 분자량이 증가하는 순서로 용출되는 특징이 있다. 고분자 혼합물의 분리하고 동시에 online 구조분석을 위해 HPLC에 FT-IR 분광기법을 적용함으로써 복잡한 고분자의 분리와 구조에 대한 정보를 쉽게 얻을 수 있다. Pasch 등은 direct HPLC-FTIR Interface를 이용하여 PS-b-PMMA와 SAN 두 가지 공중합체의 혼합물을 SEC로 먼저 분리한 후 용출되는 각 분액에 대하여 IR 스펙트럼을 얻었다.⁷⁶ 이로부터 SEC에서 용출되는 각 분액의 화학적 조성을 알 수 있다. 그

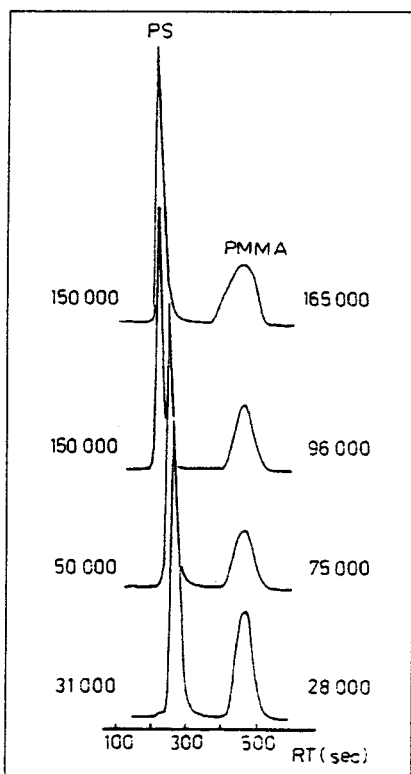


그림 8. PMMA의 임계조건을 이용한 PS/PMMA 혼합물의 분리.

그림 10(a)는 공중합체 혼합물의 SEC크로마토그램을 나타낸 것이며, 그림 10(b)는 용출부피에 따른 FTIR 스펙트럼을 나타낸 것이다. 24 mL 근처에서 용출되는 봉우리2는 IR contour plot의 nitrile 피크(2250 cm^{-1}) 및 스티렌의 특징적인 흡수 밴드들로부터 SAN임을 알 수 있다. 또한 봉우리1은 PS-PMMA 공중합체이며 머무름이 가장 긴 봉우리3은 공중합체의 합성시 첨가하는 첨가제임을 역시 IR 스펙트럼 해석을 통해 알 수 있다. IR 뿐만 아니라 NMR도 고분자 혼합물의 분리 후 구조분석에 응용될 수 있으며⁷¹ 앞으로도 더욱 다양한 분광학적 기법이 HPLC의 검출기법으로 적용될 것으로 예상된다.

2.5 공중합체의 분석

공중합체의 HPLC 분석에 관해서는 전에 자세히 다룬 적이 있으므로 본 총설에서는 최근에 보고된 분석에 몇 가지만 기술하고자 한다.^{6,7} 공중합체는 서로 다른 두 가지 이상의 단량체가 연결되어 하나의 고분자 사슬을 형성한 고분자로, 단량체의 연결 구조에 따라 랜덤 공중합체, 블록 공중합체, 그라프트

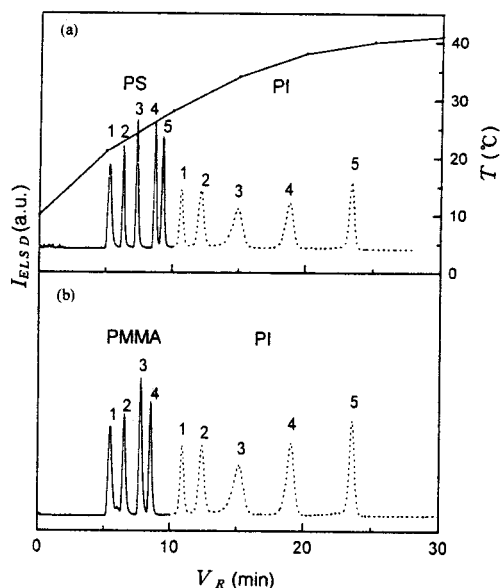
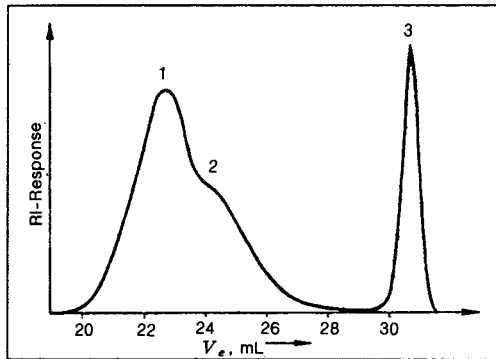
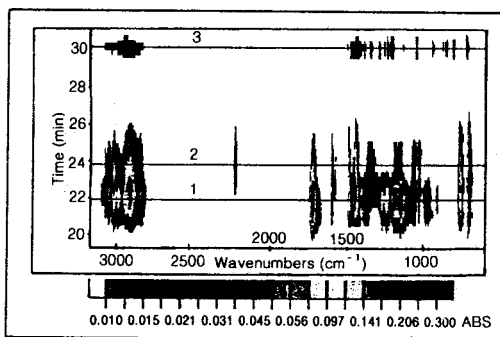


그림 9. PS/PI 및 PMMA/PI 혼합물의 SEC-TGIC 크로마토그램 (시료 분자량: PS1: 2,890,000, PS2: 501,500, PS3: 140,000, PS4: 15,300, PS5: 3,600, PI1: 2,700, PI2: 10,400, PI3: 28,000, PI4: 54,000, PI5: 200,000, PMMA1: 2,132,000, PMMA2: 364,800, PMMA3: 78,700, PMMA4: 17,900).

공중합체 등 여러 종류가 있다.⁴ 앞서 언급한 대로, 공중합체는 분자량분포와 조성분포를 동시에 지니게 된다. 두 가지의 분포를 동시에 측정하기 위한 대표적인 HPLC 기술로서, 이차원 액체 크로마토그래피 (two dimensional liquid chromatography, 2D-LC)를 들 수 있다.⁷⁷⁻⁸¹ 초기의 2D-LC에서는 일단 SEC나 IC로 시료를 분리한 후 시간 별로 분액을 취해 농축하여 각 분액을 또 다른 HPLC 칼럼으로 2차 분석하는 방식으로 행해졌다.⁷ 그러나 최근에는 자동화된 2D-LC 장비가 개발되어 손쉽게 on-line 실험이 가능하다. Murphy 등은 순상 LC와 역상 LC로 구성된 2D-LC(그림 11)를 이용하여 공업용 alcohol ethoxylate를 분석하였다.⁷⁸ Alcohol ethoxylate는 ethylene oxide(EO)와 알킬 사슬이 연결된 일종의 저분자량 블록 공중합체로, EO의 단량체 개수 및 알킬 사슬 개수의 두 가지 분포가 존재하는 화합물이다. 그림 12는 2D-LC로 alcohol ethoxylate를 분리한 전형적인 2D-LC 크로마토그램이다. 시료는 그림에 나타난 바와 같이 x개의 EO 단위와 y개의 알킬 사슬 개수를 가지는데 EO 개수에 의한 분리는 순상 IC를 통해 그림의 수직 방향으



(a)



(b)

그림 10. (a) PS-*b*-PMMA/SAN 혼합물의 SEC크로마토그램 (1 : PS-*b*-PMMA, 2: SAN, 3: Additive).

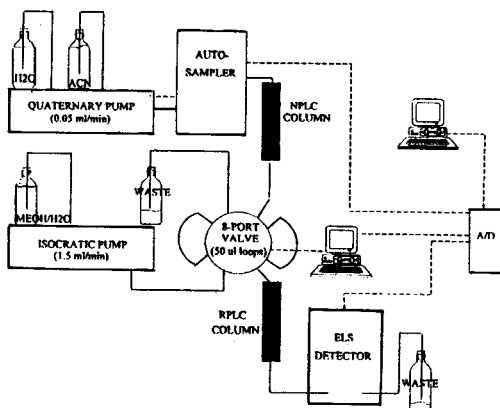


그림 11. 자동화된 2D-LC기기의 개략도.

로 일어나며 동시에 역상 IC에 의해 알킬 사슬 개수별 분리가 수행된다. 그림으로부터 사용된 alcohol ethoxylate내에 탄소 개수가 각각 12, 13, 14, 15인 네 가지 알킬 사슬이 존재하며 각 사슬은 또다시 EO 개수의 분포를 가짐을 알 수 있다. 또 다른 예로

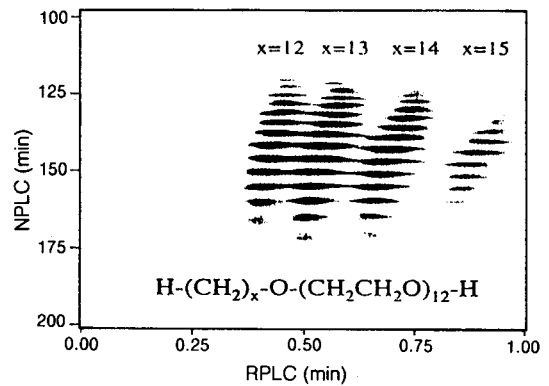


그림 12. 2D-LC를 이용하여 분리한 alcohol ethoxylate의 contour plot(1st dimension: NPLC, 2nd dimension: RPLC).

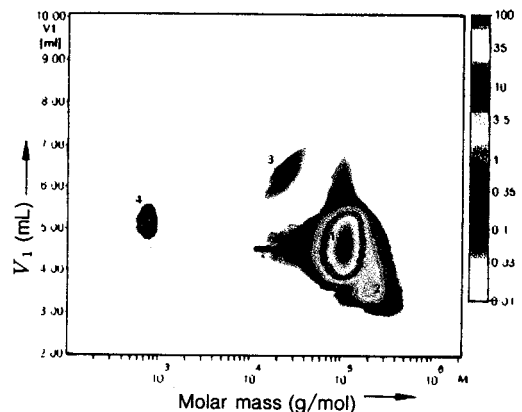


그림 13. 2D-LC를 이용하여 분리한 PS-*b*-PB의 contour plot (1st dimension: LC-CAP of PBA, 2nd dimension: SEC).

서, 음이온 중합법으로 합성한 PS와 폴리부타디엔 (polybutadiene, PB)의 블록 공중합체를 IC의 일종인 LAC(liquid adsorption chromatography) 및 SEC의 2D-LC로 분석한 실험 예를 그림 13에 나타내었다.⁸¹ 시료의 검출은 ELSD로 수행하였다. 그림의 수직축은 LAC에 의한 블록 공중합체의 1차 분리로서, PS는 LAC에 의해 5mL 이후에, PS-PB 블록공중합체는 5mL 이전에 용출된다. 1차 분리된 분액들은 SEC에 의해 분자량 별로 다시 2차 분리된다. 2D-LC 크로마토그램을 보면 5개의 상이한 봉우리가 관찰되는데, 가장 진하게 나타난 1번 봉우리는 PS-PB 블록 공중합체로서 비교적 분자량분포가 좁음을 알 수 있다. 이에 비해 2배의 분자량을 가지는 2번 봉우리는 합성과정에서 블록 공중합체의

커플링 반응에 의해 생성된 이합체이다. 음이온 중합법으로 PS-PB 블록 공중합체를 합성할 때는 우선적으로 리빙(living) PS 음이온을 형성시킨 후 부타디엔 단량체를 나중에 가해서 PB 블록을 중합하는데, 이때 함께 들어간 소량의 불순물에 의해서 PS 음이온이 종결되어 PS 단일고분자가 생성될 수 있다. 그림에서 블록 공중합체에 비해 분자량이 작고 1차 분리인 LAC에서 다소 긴 용출부피를 가지는 3번 봉우리는 이러한 이유로 형성된 소량의 PS이다. 또한 분자량이 매우 작고 분자량분포가 없는(단일 분자량) 4번 봉우리는 블록 공중합체의 저장성을 높이기 위해 혼합한 안정제이다. 이와 같이 2D-LC를 이용하면 복잡한 조성의 고분자의 정보를 정밀하게 분석할 수 있다. 또 다른 예로서 생분해성 및 생체 적합성에 의해 최근 많은 관심의 대상이 되고 있는 PEO-PLLA(poly(L-lactic acid)) 블록 공중합체의 분석을 들 수 있다.⁸² Lee 등은 PEO-PLLA 공중합체를 PEO 블록의 임계조건 하에 분석한 후 분액을 취하여 MALDI 질량 분석법으로 분석, 공중합체의 구조에 대한 연구를 수행하였다. **그림 14**는 PEO-PLLA 블록 공중합체를 PEO의 임계조건에서 분석한 LC-CAP 크로마토그램이다. 정지상으로는 역상(LUNA C18 4.6 mm ID, 100 Å) 칼럼을 사용하였고, 이동상으로는 H₂O/ACN=40/60(v/v)을 사용하였다. 해당 조건(PEO의 임계조건)에서 PLLA는 정지상과 상호작용이 강하므로 PEO-PLLA 블록 공중합체는 오로지 PLLA의 분포만을 나타내며 용출된다. **그림 14**에서 각 봉우리 위에 표시한 숫자들은 블록 공중합체내에 존재하는 PLLA 블록의 중합도를 나타내며 이러한 PLLA 중합도는 MALDI 질량분석을 통해 확인하였다. 특이할 점은, PEO-PLLA의 합성에 사용되는 LLA(L-lactic acid) 단량체는 이합체로서 존재하므로 생성된 PLLA 블록의 중합도는 오로지 2n만 가능하다는 점이다. 그러나 합성 중 생기는 부산물로서 상대적 양은 적지만 2n+1 단량체가 존재하는 것을 **그림 14**에서 확인할 수 있다. 이와 같은 분석법은 다양한 PEO-PLLA의 정밀 구조 분석에 응용될 뿐만 아니라 생분해 메커니즘의 규명에 응용될 수 있을 것으로 전망된다.

2.6 결가지 고분자의 분석

결가지 고분자는 특유의 물성을 나타내므로 재료 측면에서 많은 관심의 대상이 되고 있다. 예를 들어 폴리에틸렌은 결가지 분포에 따라 결정화도와 점성

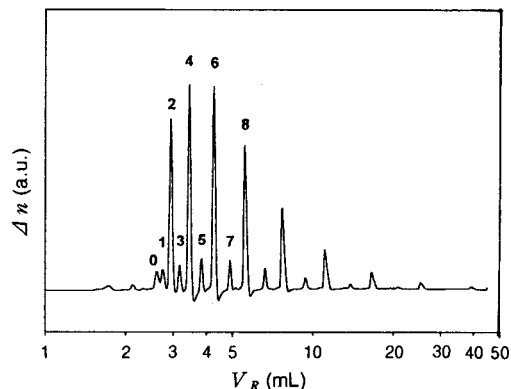


그림 14. PEO임계조건하에 얻은 PEO-PLLA 블록 공중합체의 크로마토그램(봉우리 위에 나타난 번호는 MALDI 질량분석법으로 확인한 PLLA 블록의 중합도를 의미함).

이 크게 달라지며 이는 곧 재료의 가공성 및 최종물성에 직결된다.^{6,7} 또한 공중합체의 일종으로 결가지를 가진 그래프트 고분자들도 널리 활용된다. 대부분의 경우 그래프트 공중합체는 결가지의 분포 및 반응 중간 생성물의 존재에 의해 비교적 복잡한 조성을 가지는데, Adrian 등은 2D-LC를 이용하여 PS-PB 블록공중합체에 폴리부틸아크릴레이트(poly(butylacrylate), PBA)를 그래프팅 반응시킬 때 생성되는 여러 가지 혼합물들을 분석하였다.⁸¹ 먼저 순상 칼럼을 정지상으로 사용하여 PBA의 임계조건인 THF/cyclohexane=15.5/84.5(v/v)의 조건하에 시료의 1차 분리를 수행하고 SEC를 이용하여 2차 분리하면 **그림 15**와 같은 contour plot을 얻을 수 있다. **그림 15**에 나타난 봉우리들 가운데 1은 그래프팅되지 않은 PS-PB 블록 공중합체이며, 2는 그래프팅된 공중합체이다. 그리고 5와 6은 반응에 참여하지 않은 PBA 단일 분자와 극성 말단기를 가지는 PBA이다. 또 다른 결가지 고분자인 별모양 고분자는 구조가 정밀하게 조절된 결가지 고분자로서, 여러 개의 관능기를 가지는 개시제에 단량체를 가해 합성하거나 미리 중합된 고분자 팔(arm)을 역시 다수의 관능기를 가지는 linking agent와 반응시켜 만들게 된다.⁸³ 별모양 고분자는 선형고분자에 비해 사슬이 공간적으로 배열하는데 있어서 자유도가 작으므로 분자량에 비해 분자의 크기가 작다. 만일 고분자 팔의 분자량은 같으나 팔의 개수가 다른 별모양 고분자가 섞여 있는 경우 팔 개수에 따른 크기 차이가 크지 않으므로, SEC에 의해서는 효율적인 분리를 기대하기 힘들다. 이러한 경우 IC를 이용하면 매

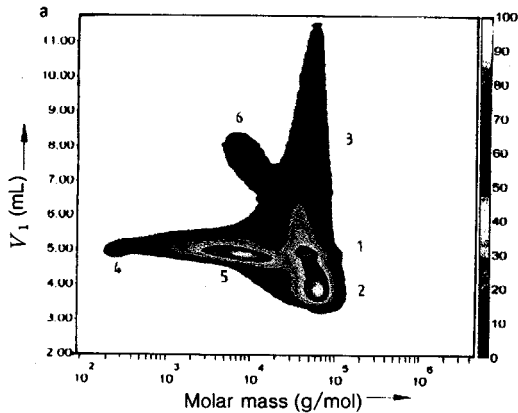


그림 15. PS/PB-graft-PBA의 2D-LC contour plot (1st dimension: LC-CAP of PBA, 2nd dimension: SEC).

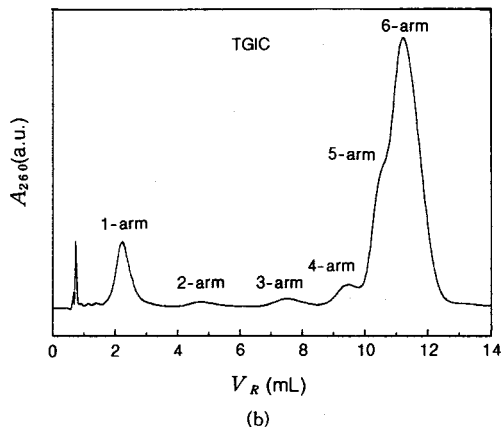
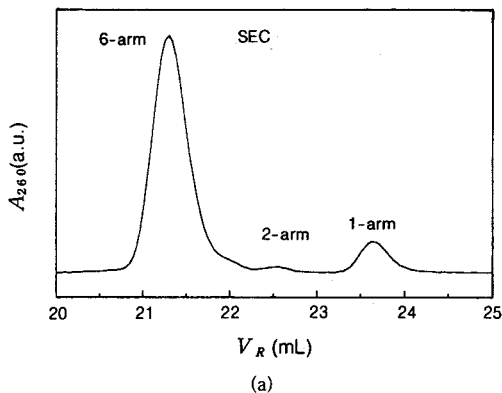


그림 16. 6개의 팔을 가지는 별모양 PS의 SEC, TGIC 크로마토그램.

우 우수한 분리능으로 팔 개수에 따른 분리를 수행할 수 있다.^{17,32} 그림 16은 여섯개의 관능기를 가지는 실레인 화합물에 90000 Da의 PS 팔을 연결시

킨 별모양 고분자를 SEC 및 TGIC로 각각 분리한 실험 예이다.³² 그림 16의 SEC 크로마토그램에서 머무름이 가장 긴 것은 미반응된 팔이며, 팔의 개수가 3, 4, 5, 6인 별모양 고분자들은 분리되지 않고 동시에 용출됨을 알 수 있다. SEC에서는 시료의 크기에 따른 분리를 수행하기 때문에 팔의 개수가 증가할수록 분자량의 증가에 비하여 크기의 증가는 뚜렷하지 않다. 특히 팔 개수가 5인 경우와 6인 경우 유체역학적 크기가 거의 비슷하여 SEC 상에서는 거의 동일한 용출부피를 나타내게 된다. 그러나 TGIC를 사용할 경우 별모양 고분자의 팔의 개수에 따라 거의 완벽하게 분리된다. TGIC 실험을 위하여 역상 칼럼과 폴리스티렌의 이동상 용매인 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN} = 57/43(\text{v/v})$ 를 사용하였다. 시료와 정지상의 열역학적 상호작용을 주된 분리 메커니즘으로 이용하는 IC에서는 상호작용을 할 수 있는 단량체 개수가 증가하면서 용출부피의 차이가 발생하므로 SEC에 비해 월등한 분리능을 나타내는 것으로 판단된다. 이와 같이 SEC로서는 분리하기 힘든 별모양, H-모양 등의 복잡한 고분자가 분리 메커니즘이 다른 TGIC에 의해 효율적으로 분석됨을 알 수 있다. Lee 등은 이러한 TGIC의 높은 분해능을 이용하여 이러한 별모양 고분자의 linking kinetics를 연구한 바 있다.¹⁷

3. 결 론

지금까지 복잡한 합성 고분자들의 특성분석을 위해 그 동안 연구된 다양한 HPLC 방법들을 소개하였다. 아직까지도 실험의 용이성, 일반성 등의 장점에 의해 SEC가 가장 널리 활용되고 있으나 이러한 추세는 복잡한 고분자들이 계속 합성되고 정밀한 특성분석이 요구되면서 점차 바뀔 것으로 예상된다. LAC, LC-CAP 등의 HPLC 방법들은 앞으로도 계속적인 연구가 진행될 것이며 SEC로 분석이 곤란한 많은 고분자 재료들의 특성분석에 상당 부분 기여할 것으로 기대된다. 또한 발전된 분광학 장비 및 자동화된 시스템을 이용한 다차원적인 HPLC 분석법이 더욱 각광받을 것으로 전망된다.

참 고 문 헌

1. W. W. Yau, J. J. Kirkland, and D. D. Bly, "Modern

- Size-Exclusion Liquid Chromatography, Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatograph", ed., John Wiley & Sons, New York, 1979.
2. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd ed., Wiley-Interscience, New York, 1979.
3. S. T. Balke, "Characterization of Complex Polymers by Size Exclusion Chromatography and High Performance Liquid Chromatography", H. G. Barth, Mays, J. W. (Ed.), in "Modern Methods of Polymer Characterization", John Wiley & Sons, New York, 1991.
4. G. Glöckner, "Gradient HPLC of Copolymers and Chromatographic Cross-Fractionation", ed., Springer-Verlag, Berlin, 1992.
5. H. Pasch and B. Trathnigg, "HPLC of Polymers", ed., Springer-Verlag, Berlin, 1997.
6. H. C. Lee and T. Chang, *Polymer Science & Technology*, **6**, 151 (1995).
7. H. C. Lee and T. Chang, *Polymer Science & Technology*, **6**, 259 (1995).
8. R. E. Boehm, D. E. Martire, D. W. Armstrong, and K. H. Bui, *Macromolecules*, **16**, 466 (1983).
9. D. W. Armstrong and R. E. Boehm, *J. Chromatogr. Sci.*, **22**, 378 (1984).
10. K. H. Bui and D. W. Armstrong, *J. Liq. Chromatogr.*, **7**, 29 (1984).
11. K. H. Bui and D. W. Armstrong, *J. Liq. Chromatogr.*, **7**, 45 (1984).
12. K. H. Bui, D. W. Armstrong, and R. E. Boehm, *J. Chromatogr.*, **288**, 15 (1984).
13. G. Glöckner, J. H. Van Den Berg, L. J. Meijerink, T. G. Scholte, and R. Koningsveld, *J. Chromatogr.*, **317**, 615 (1984).
14. R. A. Shalliker, P. E. Kavanagh, and I. M. Russell, *J. Chromatogr.*, **679**, 105 (1994).
15. H. C. Lee and T. Chang, *Polymer*, **37**, 5747 (1996).
16. H. C. Lee and T. Chang, *Macromolecules*, **29**, 7294 (1996).
17. H. C. Lee, W. Lee, T. Chang, J. S. Yoon, D. J. Frater, and J. W. Mays, *Macromolecules*, **31**, 4114 (1998).
18. W. Lee, H. C. Lee, T. Chang, and S. B. Kim, *Macromolecules*, **31**, 344 (1998).
19. C. H. Lochmüller, M. A. Moebus, Q. C. Liu, C. Jiang, and M. Elomaa, *J. Chromatogr. Sci.*, **34**, 69 (1996).
20. T. Chang, H. C. Lee, W. Lee, S. Park, and C. Ko, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2188 (1999).
21. S. Teramachi, A. Hasegawa, Y. Shima, M. Akatsuka, and M. Nakajima, *Macromolecules*, **12**, 992 (1979).
22. G. Glöckner, *Adv. Polym. Sci.*, **1987**, 159 (1987).
23. S. Mori, *J. Liq. Chromatogr.*, **16**, 1 (1993).
24. H. Inagaki, T. Miyamoto, and F. Kamiyama, *J. Polym. Sci., Part B. Polym. Phys.*, **7**, 329 (1969).
25. D. W. Armstrong and K. H. Bui, *Anal. Chem.*, **54**, 706 (1982).
26. R. A. Shalliker, P. E. Kavanagh, and I. M. Russell, *J. Chromatogr.*, **558**, 440 (1991).
27. C. Bergstrom and E. Avela, *J. Appl. Polym. Sci.*, **23**, 163 (1979).
28. S. Nakano and Y. Goto, *J. Appl. Polym. Sci.*, **26**, 4217 (1981).
29. T. Usami, Y. Goto, and S. Takaya, *Macromolecules*, **19**, 2722 (1986).
30. L. Wild, T. R. Ryle, D. C. Knobloch, and I. R. Peat, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **20**, 441 (1982).
31. L. Wild, T. R. Ryle, and D. C. Knobloch, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc.*, **23**, 133 (1982).
32. H. C. Lee, T. Chang, S. Harville, and J. W. Mays, *Macromolecules*, **31**, 690 (1998).
33. W. Lee, H. C. Lee, T. Park, T. Chang, and J. Y. Chang, *Polymer*, **40**, 7227 (1999).
34. W. Lee, H. C. Lee, T. Park, T. Chang, and K. H. Chae, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, 320 (2000).
35. W. Lee, H. Lee, J. Cha, T. Chang, K. J. Hanley, and T. P. Lodge, *Macromolecules*, **33**, 5111 (2000).
36. D. Berek, *Macromol. Symp.*, **110**, 33 (1996).
37. A. V. Gorshkov, H. Much, H. Becker, H. Pasch, V. V. Evreinov, and S. G. Entelis, *J. Chromatogr.*, **523**, 91 (1990).
38. M. A. Stadalius, M. A. Quarry, T. H. Mourey, and L. R. Snyder, *J. Chromatogr.*, **358**, 17 (1986).
39. A. A. Gorbunov and A. M. Skvortsov, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **62**, 31 (1995).
40. H. Pasch, C. Brinkmann, and Y. Gallot, *Polymer*, **34**, 4100 (1993).
41. H. Pasch, *Polymer*, **34**, 4095 (1993).
42. H. Pasch, Y. Gallot, and B. Trathnigg, *Polymer*, **34**, 4988 (1993).
43. H. Pasch and I. Zammert, *J. Liq. Chromatogr.*, **17**, 3091 (1994).
44. H. Pasch, M. Augenstein, and B. Trathnigg, *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 743 (1994).
45. A. V. Gorshkov, S. S. Verenich, M. A. Markevich, V. I. Petinov, V. V. Evreinov, and S. G. Entelis, *Polym. Sci. USSR*, **31**, 2064 (1989).
46. A. A. Gorbunov and A. M. Skvortsov, *Polym. Sci. USSR*, **29**, 1025 (1987).
47. M. Szwarc, *Nature*, **178**, 1168 (1956).
48. M. Van Beylen, S. Bywater, G. Smets, M. Szwarc, and D. Worsfold, *Adv. Polym. Sci.*, **86**, 87 (1988).
49. P. Rempp, E. Franta, and J. Herz, *Adv. Polym. Sci.*, **86**, 147 (1988).
50. M. Morton and L. J. Fetters, *Rubber Chem. Technol.*, **48**, 359 (1975).
51. M. Morton, "Anionic Polymerization, Principles and Practice", ed., Academic Press, New York, 1983.
52. J. E. McGrath, "Anionic Polymerization-Kinetics, Mechanisms, and Synthesis", in *ACS Symp. Ser.*, American Chemical Society, Washington, D. C., 1981.
53. L. H. Tung and J. C. Moore, "Fractionation of

- Synthetic Polymers", 1st ed., Marcel Dekker, New York, 1977.
54. P. J. Flory, "Principles of Polymer Chemistry", ed., Cornell, Ithaca, 1953.
 55. M. E. Schimpf, M. N. Myers, and J. C. Giddings, *J. Appl. Polym. Sci.*, **33**, 117 (1987).
 56. D. W. Shortt, *J. Chromatogr. A*, **686**, 11 (1994).
 57. P. J. Wyatt and D. N. Villalpando, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **20**, 2169 (1997).
 58. T. Miyamoto and H. Inagaki, *Polym. J.*, **1**, 46 (1970).
 59. H. Sato, M. Sasaki, and K. Ogino, *Polym. J.*, **21**, 965 (1989).
 60. D. Berek, M. Janco, K. Hatada, T. Kitayama, and N. Fujimoto, *Polym. J.*, **29**, 1029 (1997).
 61. T. Kitayama, M. Janco, K. Ute, R. Niimi, K. Hatada, and D. Berek, *Anal. Chem.*, **72**, 1518 (2000).
 62. J. J. Lewis, L. B. Rogers, and R. E. Pauls, *J. Chromatogr.*, **264**, 339 (1983).
 63. V. V. Evreinov, A. V. Gorshkov, T. N. Prudskova, V. V. Guryanova, A. V. Pavlov, A. Y. Malkin, and S. G. Entelis, *Polym. Bull.*, **14**, 131 (1985).
 64. D. R. Iyengar and T. J. McCarthy, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc.*, **30**, 154 (1989).
 65. D. R. Iyengar and T. J. McCarthy, *Macromolecules*, **23**, 4344 (1990).
 66. R. P. Kruger, H. Much, and G. Schulz, *J. Liq. Chromatogr.*, **17**, 3069 (1994).
 67. P. Mansson, *J. Polym. Sci. Part A. Polym. Chem.*, **18**, 1945 (1980).
 68. S. Pokorný, J. Janca, L. Mrkvickova, O. Tureckova, and J. Trekoval, *J. Liq. Chromatogr.*, **4**, 1 (1981).
 69. A. M. Skvortsov, Y. B. Zhulina, and A. A. Gorbunov, *Polym. Sci. USSR*, **22**, 908 (1980).
 70. I. A. Vakhtina, Y. A. Petrakova, U. Pentsel, and O. G. Tarakanov, *Poly. Sci. USSR*, **22**, 1833 (1980).
 71. G. Schlotterbeck, H. Pasch, and K. Albert, *Polym. Bull.*, **38**, 673 (1997).
 72. W. Lee, D. H. Cho, and T. Chang, *J. Chromatogr.*, *Submitted*.
 73. A. T. Jackson, H. T. Yates, C. L. Lindsay, J. A. Segal, J. H. Scrivens, G. Critchley, and J. Brown, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 520 (1997).
 74. H. C. Lee, M. Ree, and T. Chang, *Polymer*, **36**, 2215 (1995).
 75. M. Janco, D. Berek, and T. Prudskova, *Polymer*, **36**, 3295 (1995).
 76. H. Pasch, "Separation of Polymer Blends by Interaction Chromatography", E. Pefferkorn(Ed.), in "Interfacial Phenomena in Chromatography", Marcel Dekker, New York, 1999.
 77. M. M. Bushey and J. W. Jorgenson, *Anal. Chem.*, **62**, 161 (1990).
 78. R. E. Murphy, M. R. Schure, and J. P. Foley, *Anal. Chem.*, **70**, 4353 (1998).
 79. R. E. Murphy, M. R. Schure, and J. P. Foley, *Anal. Chem.*, **70**, 1585 (1998).
 80. H. Pasch, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **1**, 3879 (1999).
 81. J. Adrian, E. Esser, G. Hellmann, and H. Pasch, *Polymer*, **41**, 2439 (2000).
 82. H. Lee, W. Lee, and T. Chang, *Macromolecules*, **32**, 4143 (1999).
 83. D. J. Frater, J. W. Mays, C. Jackson, S. Sioula, V. Efstradiadis, and N. Hadjichristidis, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, **35**, 587 (1997).