

2D-LC를 이용한 고분자의 분석

임규현 · 안선영 · 장태현

1. 서론

고분자는 단일 화학종이 아닌 복잡한 혼합물(분자량, 화학 조성 등이 다른 물질들의 집합)이다. 따라서 고분자의 합성 메커니즘이나 물성을 이해하기 위해서는 그들이 가지고 있는 분자 특성(molecular characteristics)의 분포(distribution)에 대한 정보가 필요하다. 예를 들어 선형 단일중합체(linear homo-polymer)의 경우, 분자량 및 분자량 분포가 그러한 정보가 될 것이며, 공중합체(copolymer)의 경우는 이에 덧붙여 단량체들의 배열 순서 및 화학 조성 분포가 존재한다. 나아가, 곁가지를 가진 고분자(branched polymer)의 경우 곁가지의 개수 및 길이의 분포가, 말단기에 기능성 치환기를 가진 고분자(telechelic polymer)의 경우는 치환기의 종류 및 분포 등이 좋은 예이다. 이러한 고분자 물질의 분자 특성 분포는 최종 물성에 결정적인 영향을 미치게 된다. **그림 1**은 고분자가 가진 대표적인 분자 특성 분포들을 정리한 것이다.

최근 들어 합성고분자의 응용이 구조 재료를 넘어 여러 종류의 기능성을 요구하는 방향으로 점차 변화하고 있다. 이를 위해 여러 가지 분자 특성에 대한 보다 정밀한 조절이 요구되고 있으며, 보다 정밀하게 분자 특성 분포를 조절할 수 있는 새로운 고분자 합성 방법들이 개발되고 있다. 이에 발 맞추어 합성 고분자의 다양한 분자 특성을 보다 정밀하게 분석하는 방법에 대한 발전도 같이 이루어지게 되었다.¹⁻⁵ 고전적인 고분자 분석법은(예를 들어 점성도, 광산란, 삼투압, 분광학적 측정법 등) 분자 특성에 대한 평균값만을 제공한다. 이들의 분포를 분석하려면 일차적으로는 혼합물을 단일 화학종으로 분리하는 과정이 선행되어야 한다. 합성고분자의 경우, 일차 분리

는 대부분 크기배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography 또는 gel permeation chromatography, SEC 또는 GPC)를 이용해 이루어져 왔다. SEC는 HPLC의 한 종류로서 고분자 시료를 분자 크기에 따라 분리한 후, 분리된 시료들을 다양한 검출기법을(분광법, 광산란법, 점도법, 질량분석법 등) 사용하여 분석하는 방법이다.⁶⁻⁸ 분자 크기가 분자량에 따라 단순함수로 변화하는 선형 단일중합체의 경우는 분자량을 알고 있는 표준 시료를 이용한 검정 곡선을 사용해서 분자량 분포를 구할 수 있다. 그러나 분자 크기와 분자량의 관계식이 복잡한, 공중합체나 비선형 구조를 가진 고분자의 경우, 분자 크기에 따른 분리를 다른 분자특성과 연계시키는 것이 간단치 않다. 이러한 경우, 구하고자 하는 분자 특성에 따라 분리할 수 있는 방법이 요구되는데 상호작용 크로마토그래피와(inter-action chromatography, IC) 임계조건 액체 크로마토그래피가(liquid chromatography at chromatographic critical condition, LCCC) 많이 사용되는 방법이다. 이들을 이용해서 SEC로는 불가능했던 블록공중합체, 비선형 고분자, 작용기, 입체 규칙성 등에 대한 분리 분



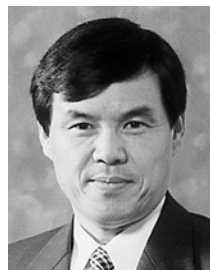
안선영

2006 한양대학교 화학과(학사)
2006~ 포항공과대학교 화학과(통합과정)
현재



임규현

2003 한양대학교 화학과(학사)
2005 포항공과대학교 화학과(석사)
2005~ 포항공과대학교 화학과(박사과정)
현재



장태현

1975 서울대학교 화학과(이학사)
1984 University of Wisconsin 화학과(이학박사)
1986~ 한국화학연구소 선임연구원
1988
1988~ 포항공과대학교 화학과 교수
현재

Characterization of Polymers by 2D-LC

포항공과대학교 화학과 (Kyuhyun Im, Seonyoung Ahn, and Taihyun Chang, Department of Chemistry, Pohang University of Science and Technology, San 31, Hyoja-dong, Nam gu, Pohang 790-784, Korea) e-mail: tc@postech.ac.kr

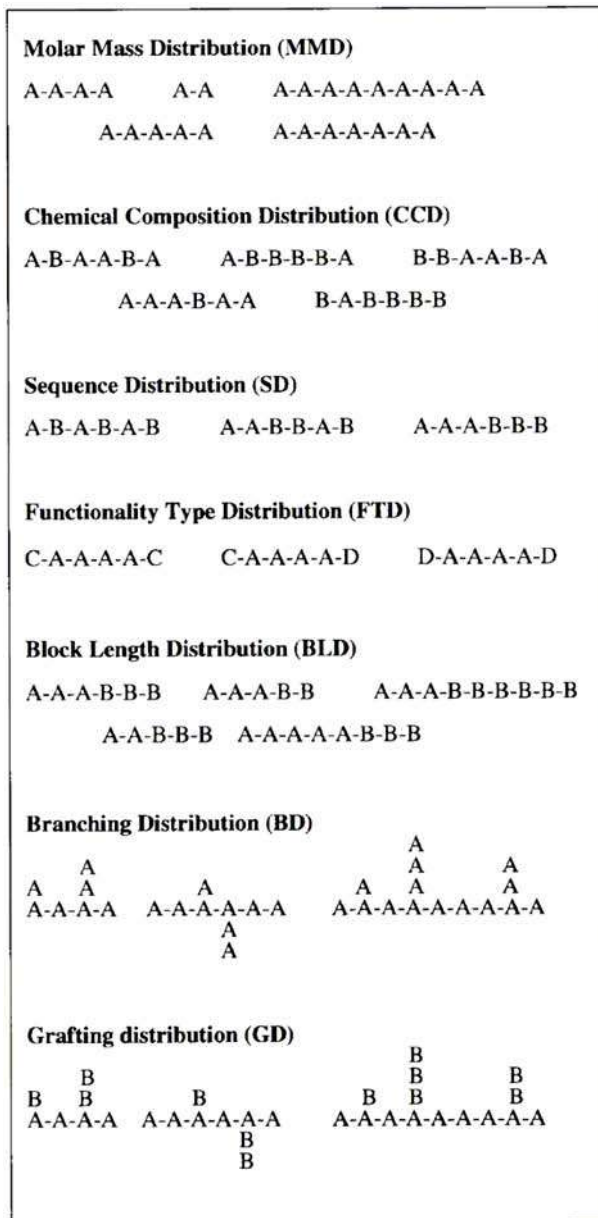


그림 1. Examples of molecular characteristics distribution in polymers(A & B : repeating units , C & D: functional groups).

석이 가능해졌으며, SEC 보다 좋은 분리능으로 단일 중합체의 보다 정밀한 분석도 이루어졌다.^{1,3,5}

앞서 언급했듯이 합성 고분자는 두 개 이상의 분자 특성에서 분포를 지닐 수 있다. 예를 들어 공중합체의 경우는 분자량과 화학적 조성 분포를, 기능성 치환기를 가진 고분자는 분자량과 치환기에 대한 분포가 공존한다. 이렇듯 고분자 물질이 두 가지 이상의 분자 특성 분포를 가지고 있는 경우에는 두 가지 이상의 분리 분석법을 사용할 필요가 있다. 두 가지 이상의 분리 방법을 연계하는 분석법은 작은 분자량을 가진 물질의 분리나 생체고분자의 분리에서 흔히 이용되어 온 기술이다. 예를 들어 크로마토그래피나 전기영동(electrophoresis) 법을 질량 분석법과 연결하는 방법이 대표적인 예가 될 수 있다. 2개의 전기영동 분리를 이용한 2차원 분리도 단백질 분리에 있어 기본적인 방법으로 자리 잡은 지 오래이며, 2차원 박막

(thin layer) 크로마토그래피 방법도 오랫동안 사용되어온 분리 분석법이다. 두 가지의 칼럼 크로마토그래피를 연결한 2차원 크로마토그래피 방법은 기체 크로마토그래피(GC) 분리에서 먼저 이루어졌다.

한 가지 이상의 특성분포를 가진 고분자의 다차원 분석은 액체 크로마토그래피를 이용하게 된다. HPLC를 이용한 고분자의 다차원 분석의 효시는 SEC를 용매를 바꾸어서 분석하는 SEC×SEC의 2차원 액체 크로마토그래피(two dimensional liquid chromatography, 2D-LC) 분리라고 할 수 있다. Balke와 Patel은 고분자 사슬의 크기가 용매의 종류에 따라 달라진다는 점을 착안하여 혼합물 분리를 위해 각기 다른 용매를 사용한 SEC×SEC를 소개하였다.^{9,10} 그러나 공중합체나 혼합물의 분석은 용매의 질에 의한 크기 변화가 크게 민감하지 않아 우수한 분리능을 보여주지 못했다. 본 총설에서는 HPLC를 사용한 2D-LC 분리 방법과 몇 가지 분석 예들을 소개하고자 한다.

2. 본론

2.1 다차원 크로마토그래피(Multi-Dimensional Chromatography)

크로마토그래피 시스템의 효율을 나타내주는 피이크(peak) 용량(n)은 한 크로마토그램 내에 분리될 수 있는 피이크의 개수를 의미하며, 칼럼의 분리능을 나타내는 지표가 되는데 1차원 분리에서 피이크 용량은 다음과 같이 정의된다.¹¹

$$n_{1D} = 1 + \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \ln \frac{V_p}{V_0} \quad (1)$$

여기서 N 은 이론 단수, V_0 는 용매 분자의 용출 부피(elution volume), V_p 는 시료분자의 용출 부피이다. 칼럼의 분리능이(이론 단수) 클수록, 시료 분자의 머무름이 클수록 피이크 용량이 커짐을 알 수 있다. 다차원 분리에서 피이크 용량은 각 차원 분리에서의 피이크 용량의 곱이 되며 아래와 같이 표현된다.

$$n_{total} = \prod n_i \cdot \sin^{(i-1)} \theta_i \quad (2)$$

여기서 n_{total} 은 전체 피이크 용량, n_i 는 i 번째 차원 분리의 피이크 용량, θ_i 는 분리 각도이다. 흔히 이루어지고 있는 2차원 분리에 대한 피이크 용량을 구하고자 한다면 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$n_{2D} = n_1 \cdot n_2 \cdot \sin \theta = \left(1 + \frac{\sqrt{N_1}}{4} \cdot \ln \frac{V_{p,1}}{V_{0,1}} \right) \times \left(1 + \frac{\sqrt{N_2}}{4} \cdot \ln \frac{V_{p,2}}{V_{0,2}} \right) \cdot \sin \theta \quad (3)$$

각 차원 사이의 분리 각도, θ 는 다차원 분리에 있어 매우 중요하다. 가장 이상적인 형태의 2차원 분리는 분리 각도가 90도일 경우이다. 이 경우, 두 개의 분리가 완전히 독립적으로, 서로에 대해서 전혀 영향을 미치지 않는 분자 특성에 대해 분리한다는 뜻이며, 이때 2차원 분리는 최대 피이크 용량을 가지며 직교(orthogonal) 분리가 되었다고 말한다(그림 2(a)). 예를 들어 조성과 관계없이 분자

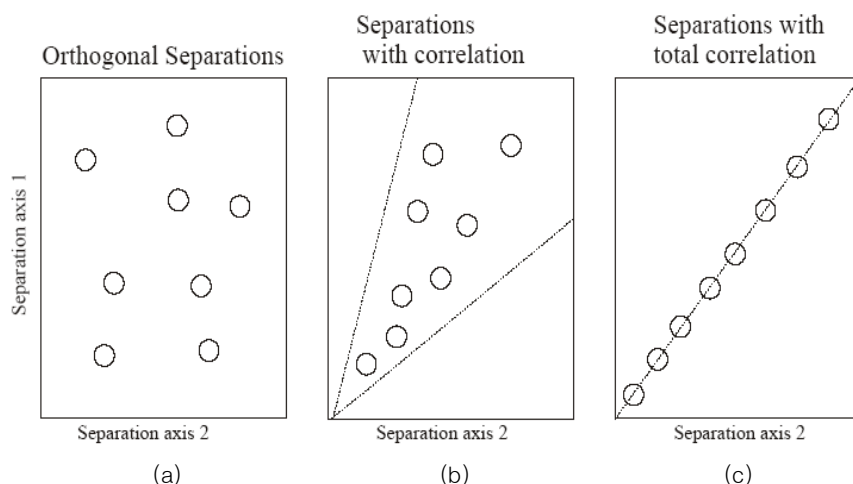


그림 2. Correlation diagram of two-dimensional chromatography separation.

량에 대해서만 분리하는 가상적인 HPLC 방법과 분자량과 관계없이 고분자의 조성에 의해서만 분리하는 가상적인 HPLC 방법을 조합하여 공중합체를 분석한다면 분리 각도는 90 도가 되어 분자량과 조성에 대한 완벽한 2차원 분포를 얻을 수 있을 것이다.

이와 반대로 분리 각도가 0인 경우에는 두 분리가 동일하여 같은 분리를 두 번 반복하는 것에 불과하며, 2차원 분리에 의한 장점은 없게 된다(그림 2(c)). 따라서 2D-LC 분석에서는 가급적 1차원 분리와 2차원 분리의 상관 관계가(correlation) 없는 방법을 사용해서 직교 분리에 가까운 분리를 추구하게 된다.^{10,12,13} 그러나 완벽한 직교분리 조건은 얻기 어려운 경우가 많다(그림 2(b)). 예를 들어 공중합체의 분자량과 조성에 따른 분리를 하고자 할 때, 이들 두 성질에 대해 완벽하게 독립적으로 분리하는 LC 분리 방법은 존재하지 않는다. 일례로 SEC는 분자크기에 따라 고분자를 분리하는데 분자 크기는 분자량뿐 아니라 조성에도 영향을 받기 때문이다.

2.2 LC×LC 이차원 크로마토그래피

2.2.1 2D-LC 장치

초기 2D-LC의 분리는 주로 첫 번째 LC 분리에 용출된 분액을 모아 두 번째 LC에 재주입시키는 오프라인(off-line) 방법이었다. 오프라인 방식은 분취 과정과 시료 농축과정에서의 많은 시간과 인력이 소모되며, 시료 처리과정에서의 오염 및 손실 등의 문제점도 발생할 수 있다. 이러한 문제점을 최소화하기 위해서 교차연결 밸브를(switching valve) 사용한 온라인(on-line) 2D-LC가 개발되었다. 표 1은 on-line과 off-line 2D-LC 시스템의 장단점에 대해서 정리하였다.

그림 3은 가장 보편적으로 사용되는 온라인 2D-LC 실험장치의 기본적인 개략도이다. 그림에서는 두 개의 LC 장치를 10포트 밸브 한 개를 사용하여 연결하였지만, 다른 밸브(8포트, 6포트 밸브)를 한 개 이상 사용하여도 가능하다. 10포트 밸브는 두 개의 루프(loop) 1차 LC와 2차 LC로 교대시켜 연결해 주는 역할을 하는데 작동 순서는 다음과 같다.

과정 ①: 1차 LC에서 용출액이 루프 2에 저장되는 한편, 루프 1에 저장된 1차 LC 용출액은 2차 LC에 의해 분리

과정 ②: 10 포트 밸브 작동

과정 ③: 1차 LC에서 용출액이 루프 1에 저장되는 한편, 루프

표 1. Comparison of Off-Line and On-Line 2D-LC Analysis

	장점	단점
Off-line 2D-LC	• 용출액 수집 용이 • 시료의 농축 가능. • 용매의 교체가 용이함 (예를 들어 1차 분리된 시료를 농축한 후 2차 분리에서 전혀 다른 용매를 이용한 분리가 가능).	• 분석 자동화가 어려움 • 시료의 오염 및 손실 가능성 증가 • 시간과 인력이 많이 소요 • 정량분석이 어렵고 재현성이 낮음.
On-line 2D-LC	• 분석 자동화 용이 • 시료 손실 최소화 • 우수한 재현성 • 분석시간 단축	• 장치가 복잡하고 고가임. • 1차 분리된 시료의 농축이 어려움. 미량 분석을 위해 특수한 on-line 농축 방법을 도입해야 함. • 1차 분리에 사용된 용매와 2차 분리용매가 상용성이 없는 경우, 특수한 용매 교체 방법을 도입해야 함.

2에 저장된 1차 LC 용출액은 2차 LC에 의해 분리

과정 ④: 10 포트 밸브 작동하면 과정 ①로 돌아감.

이와 같이 1차 LC에서 분리된 모든 용출액을 2차 LC에서 분리하는 방법을 전체(comprehensive) 분리 방법이라고 부르며, Erni와 Frei에 의해 처음 소개되었고,¹⁴ 1993년에 Kilz 등에 의해 완전 자동화된 온라인 2D-LC 장치가 상용화되기도 하였다.¹⁵ 다른 방법으로 1차 LC에서 용출된 시료의 특정 부분만 골라 수집해서 2차 LC로 분리하는 “Heart-cut” 방법이 있으나¹⁶⁻¹⁹ 일반적으로 넓은 분포를 가져 폭 넓은 피이크로 용출되는 합성 고분자의 경우에는 많이 쓰이지 않는다.

위에서 설명한 바와 같이 전체 온라인 2D-LC 분석에서는 밸브에 연결된 두 개의 루프에 교대로 1차원에서 분리된 분액이 채워지게 되며 한 루프가 채워지는 동안, 다른 루프에 채워진 시료에 대한 2D-LC 분리가 이루어지게 된다. 따라서 1차 LC에서 분리된 용출액이 루프를 채우는 시간보다 2차 LC에서 분리/분석하는 시간이 같거나 짧아야 한다. 결국 2차 LC의 분리 시간이 전체 분석 시간을 결

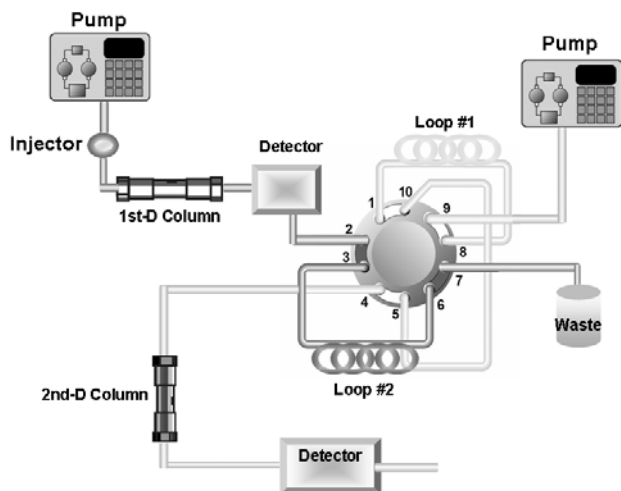


그림 3. Schematic diagram of a typical automated on-line 2D-LC chromatography instrument.

정하게 되며, 분리 효율을 잃지 않고 분석 시간을 단축하는 방법이 2D-LC에서 주요과제가 된다. 작은 분자의 분석에서는 매우 빠른 LC 분석법들이 개발되어 있다. Carr 그룹에서는 고온에서의 LC분리를 통해 LC 분석 시간을 수십 초 내에서 가능하도록 보고한 바 있으며,^{20,21} Tanaka 그룹과 Dugo 등은 압력이 적게 걸리는 Monolithic 칼럼을 이용하여 매우 큰 유속에서 LC 분리가 가능함을 보고한 바 있다.²²⁻²⁴

2.2.2 IC×SEC

고분자 분석에 2D-LC 분석법을 이용하는 대표적인 방법은 1차 LC에서는 시료와 정지상 간의 상호작용을 분리 메커니즘으로 하는 IC를 이용하여 조성, 분자량, 입체 규칙성(stereoregularity), 사슬 모양(topology), 결합지(branch) 등에 따른 분리를 실행하고, 2차 LC에서는 SEC를 이용해서 고분자의 크기에 따라서 분리하는 것이다. 시료의 머무름이 분리 조건에 따라 크게 달라지는 IC와 달리 SEC에서는 고분자 시료의 용출 부피가 칼럼의 입자 간극 부피와(interstitial volume, 즉 total exclusion limit) 총 공간부피(total void volume=interstitial volume+pore volume, 즉 total permeation limit) 사이의 값을 가지게 된다. 따라서 SEC 분리시간은 시료에 관계없이 칼럼의 선택과 용매의 유속(flow rate)에 의해 결정 된다. 따라서 칼럼의 길이를 줄이거나 용매의 유속을 올리면 분리 속도가 증가한다. 그러나 이와 함께 분리능이 감소하게 되므로, 분석 시간은 분리능과 적절한 수준에서 타협할 수 밖에 없는 한계가 있지만, SEC는 IC에 비해 빠른 분석이 가능하다. Pasch와 Kilz는 SEC 분석을 2분 내로 가능케 한 칼럼에 대해 보고한 바 있으며,²⁵ Park 등은 고온 SEC를 이용해서 분리능의 감소를 최소화 하면서 분리 속도를 단축한 예를 발표한 바 있다.^{26,27} Popovich 등은 SEC 분리 속도와 분리능의 상관관계에 대해, 고분자 물질의 빠른 SEC 분석이 생각보다는 작은 분리능의 감소를 수반한다는 연구 결과를 발표하였다.²⁸

IC와 SEC를 이용한 분석 예로서 음이온 중합법을 이용하여 합성한 PS-*b*-PI-*b*-PS 삼블록 공중합체의 경우를 그림 4에 보았다.²⁹ 이 삼블록 공중합체는 polystyrene-*b*-polyisoprene(PS-*b*-PI) 이블록 공중합체를 음이온 중합하고 두 개의 치환기를 가진 분자를

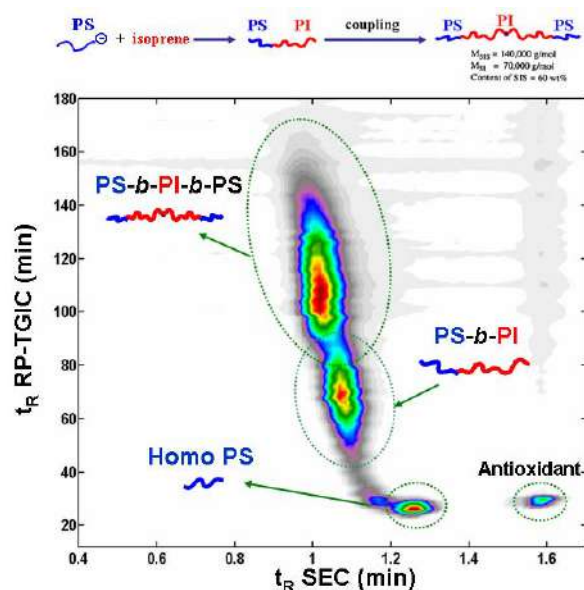


그림 4. Reversed IC×SEC 2D-LC chromatogram of a PS-*b*-PI-*b*-PS triblock copolymer.²⁹

이용해서 커플링시켰다. 합성 메커니즘에서 짐작할 수 있는 바와 같이 커플링이 일어나지 않은 이블록 공중합체와 PS 전구체(precursor) 그리고 소량의 항산화제(antioxidant) 첨가제가 이 고분자에 존재한다. 1차 IC에서 역상(reversed phase, RP) 칼럼을 정지상으로 사용하고 CH₂Cl₂와 CH₃CN 혼합용매를 사용함으로써 주로 PI 블록의 길이에 따라 분리하여 PS 전구체, 이블록, 삼블록 공중합체를 잘 분리한 것을 알 수 있다. 분리능을 극대화 하기 위해서 IC 분리 중 칼럼의 온도를 변화시켰다(temperature gradient interaction chromatography, TGIC).⁵ 2차 SEC에서는 각 물질들을 분자 크기에 따라 분리하였다. 이 2D-LC 크로마토그램에서 알 수 있는 것처럼, 1차 RP-TGIC 분리에서는 PS 전구체와 항산화제가 잘 분리되지 않았으나 2차 SEC에서 분자 크기 차이로 잘 분리되었으며, SEC만으로는 잘 분리 되지 않는 이블록과 삼블록 공중합체가 1차 RP-TGIC에서 잘 분리되어 모든 물질이 완벽하게 분리된 것을 확인할 수 있다. 2차 SEC에서 광산란 검출기를 사용한다면 이들의 절대 분자량에 대한 정보도 얻을 수 있다. 2차 SEC는 고온에서 빠른 속도로 분리하였으며, SEC 분리에 소요된 시간은 2분 이내로 전체 2D-LC 분석에 3시간 정도가 소요되었고, 이 기간 동안 약 100회의 2차 SEC 분리가 이루어졌음을 알 수 있다.

또 하나의 예로서 van der Horst 등은 역상 IC와 SEC로 구성된 2D-LC를 이용하여 14종의 PS, 폴리 메틸메타크릴레이트(PMMA), PS와 PMMA의 랜덤 공중합체인 poly(S-*r*-MMA)를 분석하였다.³⁰ 1차 분리로 역상 IC를 이용해서 주로 조성에 따른 분리를 하였는데 조성 차이가 큰 혼합물을 분리하기 위해서 용매 구배(solvent gradient) 용출법을 사용하였다. 역시 2차 SEC 분리를 통해 분자 크기에 따른 분리를 하였다. 그림 5에서 보인 것처럼 매우 우수한 직교성을 보이며 2D-LC 분리가 이루어졌음을 확인할 수 있다. 1번부터 5번까지의 분자량이 다른 PMMA는 1차 IC에서는 분리가 안 되고 동시에 용출되지만 2차 SEC에서 분자량에 따라 분리되고 있다. 6-9번은 PS의 조성이 20, 40, 60 80% 순서로 증가하는 random 공중합체가 IC로 잘 분리되고 있으며(이들의 분자 크기가 비

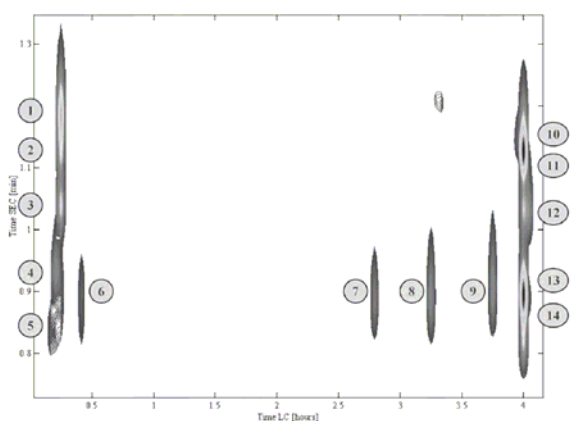


그림 5. Solvent gradient RPLC×SEC 2D-LC chromatogram of a polymer mixture: PMMA (1) 2900, (2) 6950, (3) 28 300, (4) 127 000, (5) 840 000; S-co-MMA (6) 20, (7) 40, (8) 60, (9) 80% S; PS (10) 2450, (11) 7000, (12) 30 000, (13) 200 000, (14) 900 000. 1st RPLC: C18 column; gradient 5~70% THF in CH₃CN 0~300 min at a flow rate of 4 μ L/min. 2nd SEC: Mixed bed column with THF at a flow rate of 0.6 mL/min.³⁰

숫해서 SEC로는 거의 분리가 되지 않음에 주목하라.), 10번부터 14 번까지는 PS가 2차원 SEC 분리에서 분자량에 따라서 분리되고 있음이 보여진다.

2.2.3 LCCC×SEC

고분자 시료가 분자량에 무관하게 동일한 용출 부피에서 용출되는 HPLC 분리 조건을 임계 조건이라 한다. 이러한 조건은 크기배제 효과와 상호작용 효과가 서로 상쇄되어 만들어진다. 블록공중합체나 작용기를 가진 고분자의 분석에서 고분자의 임계 조건에 HPLC 분리 조건을 맞추면, 그 고분자는 HPLC의 머무름에 영향을 주지 않기 때문에 작용기에 따른 분리, 고분자 혼합물이나 블록 공중합체에서 조성에 따른 분리 등에 유용하게 응용될 수 있다.¹ LCCC×SEC 2D-LC 방법을 이용한 폴리에틸렌옥사이드(polyethyleneoxide, PEO)나,³¹ PMMA의³² 말단기/분자 크기 분석의 예를 문헌에서 찾아볼 수 있다. 또 다른 예로 분자량이 작은 폴리에스테르를 말단기의 종류에 따라서 분리한 결과를 **그림 6**에 보였다. 1차 LC에서 순상(normal phase, NP) 칼럼을 정지상으로 사용하고 알킬 체인의 임계 조건인 acetone/hexane=51/49 (v/v)에서 시료의 말단기 종류에 따라 분리하고, SEC를 이용한 2차 LC에서는 분자량에 대한 정보를 얻었다.³³

Coulier 등은 LCCC×SEC 2D-LC를 이용해서 폴리카보네이트(PC)의 가수 분해를 연구한 결과를 보고하였다.³⁴ 분해된 PC는 정상 PC와 다른 말단기를 가지기 때문에 정상 PC의 임계조건에서 분리가 가능하다. 실리카 칼럼을 이용하여 chloroform과 diethylether의 혼합용매에서 얻어진 PC의 임계조건에서의 1차 LCCC에서 정상 PC와 가수 분해된 PC는 분해 과정 중에 달라진 말단기에 따라 분리되고, 각각의 분자량에 대한 정보를 2차 SEC를 통해 얻을 수 있었다. **그림 7**에서 가로축의 0.5~1 mL에서 보이는 피크가 임계조건에서 용출되는 정상 PC이고 뒤에 용출되는 피크(1~1.5 mL)가 분해(degradation)된 고분자이다. 세로축은 SEC를 통해서 각 고분자의 분자량을 보여주고 있다.

2.2.4 IC×IC 2D-LC

앞서 설명한 분리 방법은 2차 분리에서 모두 SEC 방법을 사용하

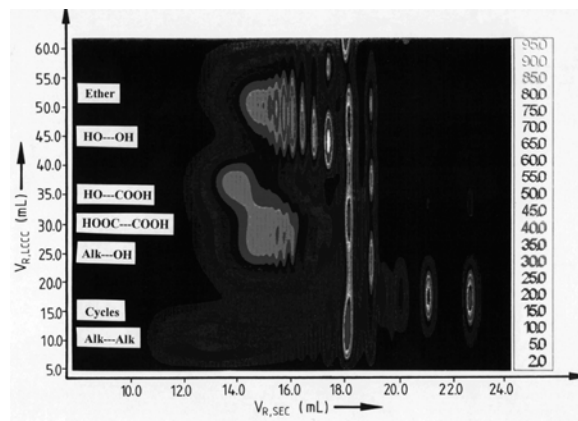


그림 6. LCCC×SEC 2D-LC chromatogram of low MW polyester.³⁴

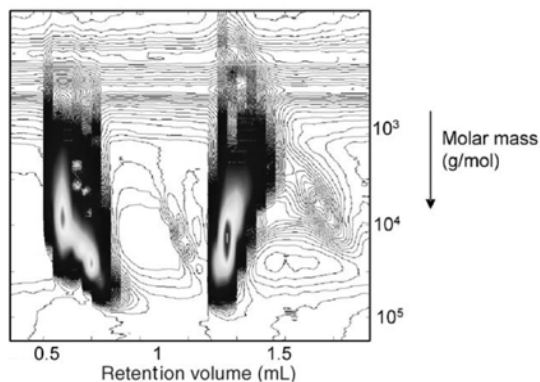


그림 7. LCCC×SEC 2D-LC chromatogram of a degraded poly-carbonate.³⁴

였다. 그러나 SEC는 엄밀히 말해 분자량에 따른 분리가 아니라 유체 역학적인 크기(hydrodynamic volume)에 따른 분리이며, SEC의 분리능은 그다지 높지 않다.³⁵ 높은 분리능을 위해서는 IC 분리를 모두 이용하는 것이 더욱 효과적이다. IC×IC 2D-LC 분리는 작은 분자들의 분리에서는 많이 사용되어 왔다. 하지만 고분자 분석에 있어서는 빠른 IC 분리가 어렵기 때문에 아직 보완되어야 할 점이 있지만 결과에서 보여지는 분리능은 전에 보여진 방법보다 월등함을 알 수 있다. Murphy 등은 순상과 역상 IC로 구성된 2D-LC를 이용하여 공업용 alcohol ethoxylate를 분석하였다.³⁶ Alcohol ethoxylate는 poly(ethylene oxide)와 알킬 사슬이 연결된 일종의 저분자량 블록 공중합체로, PEO의 단량체 개수 및 알킬 사슬 길이의 두 가지 분포가 존재하는 화합물이다. **그림 8**은 2D-LC로 alcohol ethoxylate를 분리한 2D-LC 크로마토그램이다. EO 개수에 따른 분리는 순상 IC를 통해 그림의 수직 방향으로 일어나며 동시에 역상 IC에 의해 알킬 사슬의 길이에 따른 분리가 이루어지게 된다. 그림으로부터 사용된 alcohol ethoxylate내에 탄소 개수가 각각 x=12, 13, 14, 15인 네 가지 알킬 사슬이 존재하며 각 체인은 또다시 EO 개수의 분포를 가짐을 알 수 있다.

또 다른 예로, Im 등은 음이온 중합법으로 합성한 작은 분자량의 PS-*b*-PI 블록 공중합체를 순상과 역상 크로마토그래피법으로 분석하였다.³⁷ **그림 9**에서 보인 바와 같이 PS-*b*-PI의 PS 블록 길이에 따른 분리는 1차 NPLC를 통해 일어나며, 2차 RPLC에 의한 PI 블록에 따른 분리가 수행되었다. 이 IC×IC 2D-LC의 분리능은 매

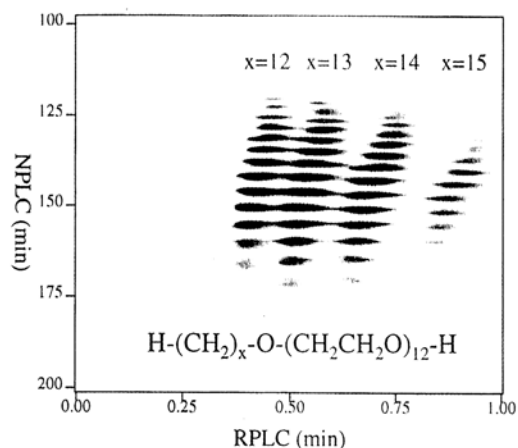


그림 8. NPLC×RPLC 2D-LC chromatogram of alcohol ethoxylate.³⁶

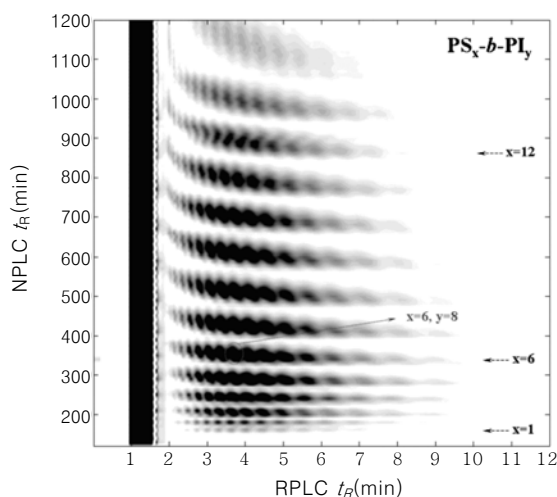


그림 9. NPLC×RPLC 2D-LC chromatogram of low MW PS-*b*-PI.³⁷

우 높아 약 200여 개 이상의 스타이렌 단위와 이소프렌 단위의 개수 별로 완벽하게 분리할 수 있음을 보여준다.

두 개의 분리에서 모두 RPLC를 사용한 예도 보고되었다. Shal- liker 그룹에서는 음이온 중합법으로 합성된 스타이렌 올리고머의 분리 실험을 통해 입체구조에 따른 이성질체의(diastereomer) 분리를 시도하였다. 1차 RPLC에서는 C18 실리카 칼럼과 메탄올 용매를 사용하여 PS 올리고머가 중합도에 따라 분리되도록 유도하였고, 2차 RPLC에서는 Carbon Clad Zirconia 역상 칼럼과 CH₃CN을 이용해서 이성질체의 분리가 일어남을 관찰하였다. 이론적으로 58개의 이성질체가 존재하고 실험적으로는 47개의 성분 분리가 가능하였다.³⁸ 또 Im 등은 1차 RP-TGIC를 사용하여 겔가지를 가진 고분자의 분자량에 따른 분리를 유도하고, 2차 분리에서는 PS의 임계조건에서 RP-LCCC를 이용하여 겔가지 개수에 따라 성공적으로 분리하였다.³⁹ 그림 10에서 숫자는 겔가지의 개수를 나타내는데 1은 선형 PS 전구체이다. 2차 LCCC에서는 겔가지를 만드는데 사용한 실리온 화합물과 개시제로 사용된 말단기인 sec-butyl기의 영향으로, 겔가지의 개수에 따라서 분리되고 있다.

표 1에서 지적되었듯이 2차 LC에 주입되는 시료의 낮은 농도 문제나 두 개의 분리에 사용되는 용매 사이의 상용성 문제는 온라인 2D-

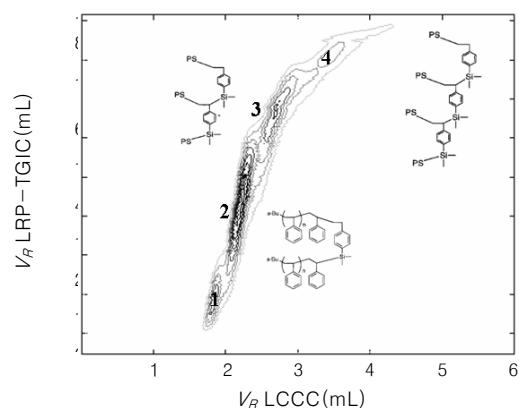


그림 10. RP-TGIC×LCCC 2D-LC chromatogram of branched PS.³⁹

LC 분석에서 해결해야 할 주요 과제로 남아있다. 1차 LC에 주입된 시료가 분리되어 나오는 용출액의 낮은 시료 농도는 2차 LC에서 검출에 큰 어려움을 준다. 그렇다고 1차 LC 분리의 시료 주입량을 증가시키면 1차 LC의 분리능이 떨어지게 된다. 이에 대한 해결책은 1차 분리된 시료를 온라인으로 농축시키는 방법인데 이 과정에서 용매의 교환도 같이 일어나게 하면 두 LC 분리 용매의 상용성문제도 해결할 수 있다. Nguyen 등은 그림 11(A)와 같은 장치를 이용하여 고분자 혼합물 분리에 full adsorption/desorption(FAD) 방법을 제안한 바 있다.⁴⁰ PS/PMMA 혼합물을 v2(valve 2)를 통해 주입하고 톨루엔을 먼저 흘려주면 극성이 강한 PMMA는 작은 FAD 칼럼에 완전히 흡착되는 반면에 PS는 흡착되지 않고 그대로 통과하여 SEC 칼럼에서 분자량별 분리가 수행된다. 이렇게 먼저 PS의 분자량 분석을 수행한 후, v3을 통해 극성 용매인 THF로 이동상을 바꾸면 PMMA가 FAD에서 탈착되어 SEC 칼럼으로 들어가 분리가 일어나게 된다. Im 등은 유사한 흡/탈착 과정을 이용해서 그림 9에 보인 PS-*b*-PI의 분리에 활용하였다.³⁷

Sweeney 등은 1차 분리 칼럼보다 trap용 칼럼의 알킬 사슬을 길게 함으로써 1차 LC에서 분리된 시료와 trap 칼럼의 강한 흡착을 유도하였다.⁴¹ 그림 11(B)에서 보는 것처럼 흡/탈착의 효율성을 더 높이기 위해 trap 시에는 칼럼의 온도를 0 °C로 유지시켰고 빠른 탈착을 유도하기 위해서 칼럼의 온도를 50 °C로 승온시켰다. 이 방법으로 시료 농축을 위한 새로운 시도를 제시했다는 의미를 부여할 수 있겠지만, 실제적인 분석 결과를 얻지는 못했다.

2.3 LC와 질량 분석법 조합

고분자의 화학적 구조를 정확히 알아내고자 할 때 HPLC 분리와 함께 검출 방법이 중요하다. NMR, FT-IR과 같은 분광학적 분석법이 나 질량분석법이 화합물의 구조를 알아내기 위해 사용되는 대표적인 방법이다.² 이중 질량분석법은 검출 방법인 동시에 분자량에 대한 분리도 동시에 이루어지는 방법이기 때문에 2차원 분리/분석법의 하나로 구분할 수도 있다. 특히 soft 이온화 기술인 matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight MS(MALDI-TOF MS)의 발전은 고분자 분석에 큰 공헌을 하였다. MALDI 질량 분석법은 매우 빠르고, 분자량 분포가 좁고 극성이 큰 고분자의 경우 500,000 Da까지의 고분자량도 측정할 결과가 보고된 바 있지만, 넓은 분자량 분포를 가지는 고분자의 분석에는 한계를 가지고 있다.⁴² 결국 HPLC를 이용해서 분자량 분포가 좁은 분액을 취하고 분석하는 방법이 당분간은 합성 고분자의 표준 분석법으로 사용될 것으로 예측된다.

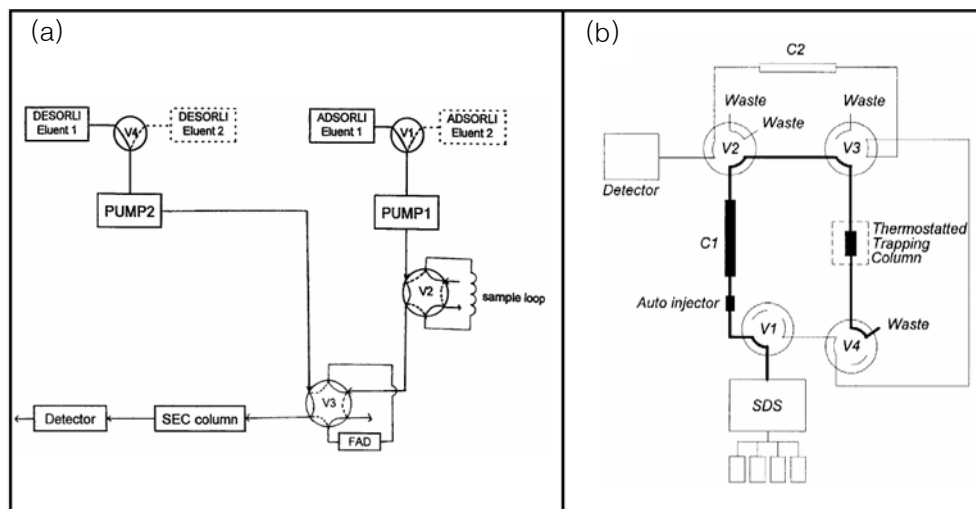


그림 11. (a) Schematic diagram of a FAD-SEC apparatus.⁴⁰ (b) Schematic diagram of a FAD-SEC apparatus controlled by temperature.⁴¹

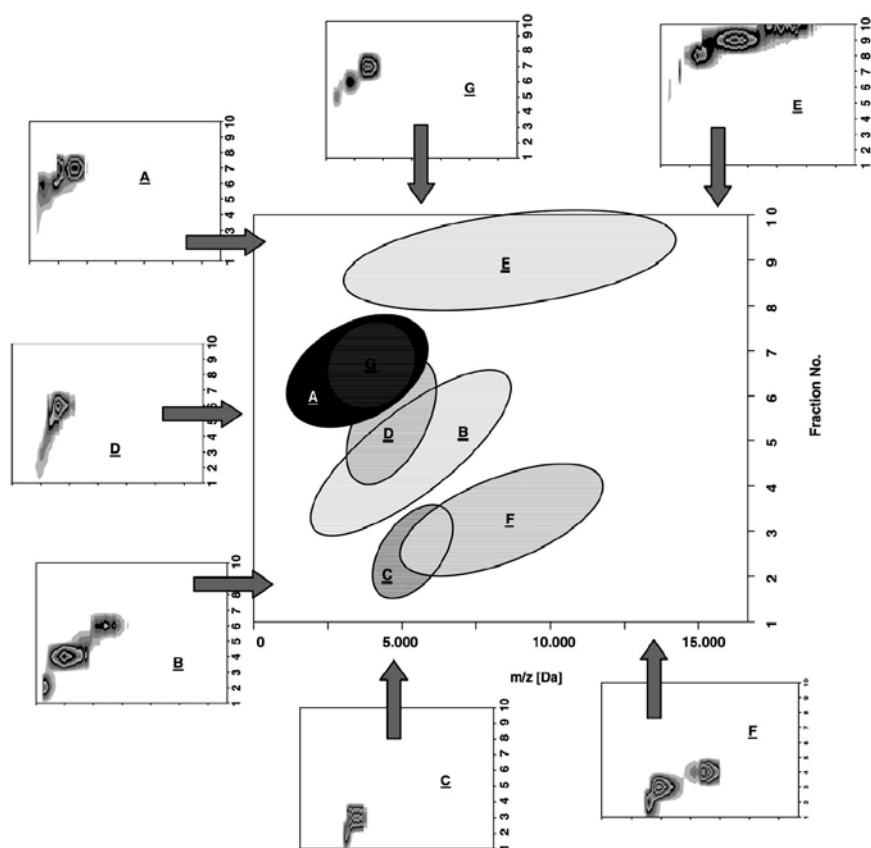


그림 12. LCCC x MALDI-TOF MS 2D-separation of PA 6,6.⁴³

HPLC와 MALDI-TOF MS의 2차원 분리/분석의 한 예를 그림 12에 보였다. Weidner 등은 폴리아미드(polyamide 6,6, PA)를 말 단기에 따라 분리/분석하기 위해서 역상 칼럼과 HFIP 용매를 이용한 PA의 임계조건에서 1차 LCCC 분리를 한 후, MALDI-TOF MS를 이용하여 용출되는 전 분액을 2차 분리/분석하였다.⁴³ 그림 12에서 세로축은 임계조건에서 받은 분액의 개수를 나타내고 가로축은 질량 분석기로 측정된 절대 분자량을 표시하고 있다. 합성과정 중에 나타나는 여러 종류의 부산물들이 확인되었으며, 분자량으로부터 예측되는

분자 구조를 표 2에 나타내었다.

2.4 Temperature Rising Elution Fractionation(TREF)

폴리올레핀의 분석에 많이 사용되는 TREF는 칼럼의 충전물 표면에 침전시킨 고분자를 온도를 높이면서 용출시키는 방법이다. 폴리올레핀은 결가지의 빈도에 따라 결정성이 달라지며, 용해 온도가 달라 TREF에서 결정도(crystallinity)에 따른 분리가 이루어진다. 이 경우 칼럼의 충전물은 침전된 시료의 지지체 역할만 하게 되며 정지상으로 서의 화학적인 역할은 하지 않아 엄밀한 의미에서 크로마토그래피라

표 2. Structures of Original Polyamide 6, 6 and Possible Structure after Modification of End Groups⁴³

original structures	additional structures after modification with cyclohexylamine	
A		
B	E	H
C	F	
D	G	I
		K

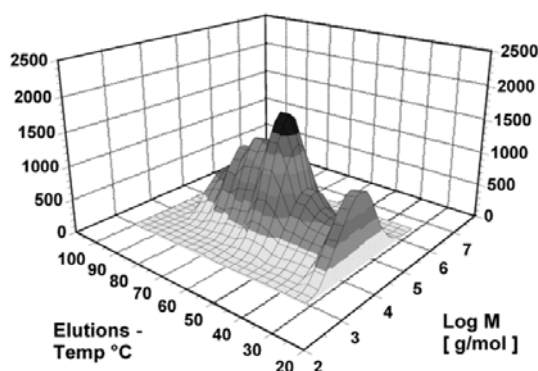


그림 13. TREF × high T SEC 2D-separation of ethylene/butylenes copolymer prepared by Ziegler-Natta polymerization.⁴⁸

고 할 수는 없지만 2차원 분리/분석법에는 당연히 포함되는 결정성 고분자의 중요한 분석법이다.⁴⁴ 여러 연구자들의 의해 propylene-butene-1,⁴⁵ ethylene-1-hexene⁴⁶ 공중합체와 저밀도 폴리에틸렌 등의⁴⁷ 결과가 보고된 바 있다. 그림 13은 Ziegler-Natta 촉매를 이용해서 중합된 에틸렌/부텐 공중합체를 TREF × 고온 SEC의 2D 분석 결과이다.⁴⁸ 온도에 따라 결정도에 따른 TREF 분리가 이루어지며 2차 SEC에서 분자량 분포에 대한 정보를 얻을 수 있다. 즉 1차 TREF를 통해 결정지, 즉 화학적 조성에 대한 분포 정보를 얻고, 2차 SEC를 통해 분자량 분포에 대한 정보를 동시에 얻는 2차원 분리/분석의 예이다.

3. 결론

지금까지 복잡한 합성 고분자들의 특성 분석을 위해 그동안

활용된 다양한 2D-LC 방법들을 소개하였다. 아직까지도 실험의 용이성, 일반성 등의 장점에 의해 단순한 SEC 분리/분석이 합성 고분자 분석에서 주로 사용되고 있으나, 보다 정밀한 합성과 물성의 조절이 요구되는 추세에 발 맞추어 보다 정밀한 IC, LCCC 분석 예들이 문헌에 보고되는 빈도가 빠른 속도로 늘어나고 있다. 한발 더 나아가 2D-LC 분석의 응용 사례도 눈에 띄게 증가하고 있다. 현재까지 대부분의 2D-LC 분석은 2차 분리에 SEC를 사용하는 경우가 대부분이지만 이 또한 복잡한 고분자들에 대한 정밀한 분자 특성 분석이 요구되면서 보다 다양화될 것으로 예측된다. 특히 질량 분석기, 분광학 분석 장치와의 연동으로 다차원 분석법이 더욱 다양화되고 빠른 속도로 실용화될 것으로 기대된다.

참고문헌

1. H. Pasch and B. Trathnigg, *HPLC of Polymers*, Springer-Verlag, Berlin, 1997.
2. H. Pasch, *Adv. Polym. Sci.*, **150**, 1 (2000).
3. T. Chang, *Adv. Polym. Sci.*, **163**, 1 (2003).
4. H. J. A. Philipsen, *J. Chromatogr. A*, **1037**, 329 (2004).
5. T. Chang, *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.*, **43**, 1591 (2005).
6. W. W. Yau, J. J. Kirkland, and D. D. Bly, *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography, Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, 1979.
7. K. Kwon and T. Chang, *Polym. Sci. Tech.*, **13**, 384 (2002).
8. D. Won and T. Chang, *Polym. Sci. Tech.*, **14**, 748 (2003).
9. S. T. Balke and R. D. Patel, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, **18**, 453 (1980).
10. S. T. Balke, in *Modern Methods of Polymer Characterization*, H. G.

- Barth, J. W. Mays, Editors, John Wiley & Sons, New York, 1991.
11. E. Grushka, *Anal. Chem.*, **42**, 1142 (1970).
12. P. J. Slonecker, X. Li, T. H. Ridgway, and J. G. Dorsey, *Anal. Chem.*, **68**, 682 (1996).
13. C. J. Venkatramani, J. Xu, and J. B. Phillips, *Anal. Chem.*, **68**, 1486 (1996).
14. F. Erni and R. W. Frei, *J. Chromatogr.*, **149**, 561 (1978).
15. P. Kilz, R. P. Kruger, H. Much, and G. Schulz, *Adv. Chem.*, **247**, 223 (1995).
16. G. Glöckner, *Gradient HPLC of Copolymers and Chromatographic Cross-Fractionation*, Springer-Verlag, Berlin, 1992.
17. J. Falkenhagen, H. Much, W. Stauff, and A. H. E. Muller, *Macromolecules*, **33**, 3687 (2000).
18. B. Trathnigg and C. Rappel, *J. Chromatogr. A*, **952**, 149 (2002).
19. J. M. Gray, G. R. Dennis, P. J. Slonecker, and R. A. Shalliker, *J. Chromatogr. A*, **1015**, 89 (2003).
20. D. R. Stoll and P. W. Carr, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 5034 (2005).
21. A. P. Schellinger, D. R. Stoll, and P. W. Carr, *J. Chromatogr. A*, **1064**, 143 (2005).
22. N. Tanaka, H. Kimura, D. Tokuda, K. Hosoya, T. Ikegami, N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, Y. Shintani, M. Furuno, and K. Cabrera, *Anal. Chem.*, **76**, 1273 (2004).
23. T. Ikegami, T. Hara, H. Kimura, H. Kobayashi, K. Hosoya, K. Cabrera and N. Tanaka, *J. Chromatogr. A*, **1106**, 112 (2006).
24. P. Dugo, O. Favoino, R. Luppino, G. Dugo, and L. Mondello, *Anal. Chem.*, **76**, 2525 (2004).
25. H. Pasch and P. Kilz, *Macromol. Rapid Commun.*, **24**, 104 (2003).
26. H. Cho, S. Park, M. Ree, T. Chang, J. C. Jung, and W. C. Zin, *Macromol. Res.*, **14**, 383 (2006).
27. S. Park and T. Chang, *J. Chromatogr. A*, in press.
28. S.-T. Popovici and P. J. Schoenmakers, *J. Chromatogr. A*, **1073**, 87 (2005).
29. K. Im and T. Chang, *unpublished result*.
30. A. van der Horst and P. J. Schoenmakers, *J. Chromatogr. A*, **1000**, 693 (2003).
31. J. Adrian, D. Braun, and H. Pasch, *LC-GC Int.*, **11**, 32 (1998).
32. X. Jiang, A. Van der Horst, V. Lima, and P. J. Schoenmakers, *J. Chromatogr. A*, **1076**, 51 (2005).
33. R. P. Krüger, H. Much, and G. Schulz, *Int. J. Polym. Anal. Char.*, **2**, 221 (1996).
34. L. Coulier, E. R. Kaal, and T. Hankemeier, *J. Chromatogr. A*, **1070**, 79 (2005).
35. W. Lee, H. Lee, J. Cha, T. Chang, K. J. Hanley, and T.P. Lodge, *Macromolecules*, **33**, 5111 (2000).
36. R. E. Murphy, M. R. Schure, and J. P. Foley, *Anal. Chem.*, **70**, 4353 (1998).
37. K. Im, H.-W. Park, Y. Kim, B. Chung, M. Ree, and T. Chang, *Anal. Chem.*, **79**, 1067 (2007).
38. M. J. Gray, A. P. Sweeney, G. R. Dennis, P. J. Slonecker, and R. A. Shalliker, *Analyst*, **128**, 598 (2003).
39. K. Im, Y. Kim, T. Chang, K. Lee, and N. Choi, *J. Chromatogr. A*, **1103**, 235 (2006).
40. S. H. Nguyen, D. Berek, and O. Chiantore, *Polymer*, **39**, 5127 (1998).
41. A. P. Sweeney and R. A. Shalliker, *J. Chromatogr. A*, **968**, 41 (2002).
42. H. C. M. Byrd and C. N. McEwen, *Anal. Chem.*, **72**, 4568 (2000).
43. S. M. Weidner, U. Just, W. Wittke, F. Rittig, F. Gruber, and J. F. Friedrich, *Int. J. Mass Spectrom.*, **238**, 235 (2004).
44. S. Anantawaraskul, J. B. P. Soares, and P. M. Wood-Adams, *Adv. Polym. Sci.*, **182**, 1 (2005).
45. T. Abiru, A. Mizuno, and F. Weigand, *J. Appl. Polym. Sci.*, **68**, 1493 (1998).
46. G. B. Galland, R. S. Mauler, L. Portal da Silva, S. Liberman, A. Arli da Silva Filho, and R. Quijada, *J. Appl. Polym. Sci.*, **84**, 155 (2002).
47. M. Zhang, D. T. Lynch, and S. E. Wanke, *J. Appl. Polym. Sci.*, **75**, 960 (2000).
48. P. Kilz, *Chromatographia*, **59**, 3 (2004).