

열장 흐름 분획법에서 중력효과에 의한 고분자의 머무름 거동에 관한 연구

柳基錫* · 宋炳洙 · 朴鍾元 · 閔炳烈
연세대학교 공과대학 화학공학과
(1995. 7. 6 접수)

A Study on the Gravitational Effect Influencing Retention Behavior of Polymer in Thermal Field Flow Fractionation

Ki-Seok Ryoo*, Byoung-Su Song, Jong-Won Park, and Byoung-Ryul Min
Department of Chemistry Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
(Received July 6, 1995)

요 약. 평판형 열장흐름분획법에서 중력효과에 의한 polystyrene(PS)와 polymethylmethacrylate(PMMA)의 머무름 거동에 관하여 연구하였다. 하향 이동상 흐름의 경우 이동상 흐름 방향과 같은 방향으로 작용하는 중력 효과는 수평면으로부터 장치의 각도가 0°에서 60°까지 변화함에 따라 증가하였다. 이 효과는 PS와 PMMA의 머무름 시간을 작게 하였고, 무차원 변수 λ 의 값을 증가시켰다. 그리고 분자량이 다른 두 개의 고분자 머무름 시간차를 감소시켜 분리능을 저하시켰다. 상향 이동상 흐름의 경우 이동상 흐름의 반대 방향으로 작용하는 중력 효과는 수평면으로부터 장치의 각도가 0°에서 60°까지 증가함에 따라 증가하였다. 이 효과는 PS와 PMMA의 머무름 시간을 크게 하였고, 무차원 변수 λ 의 값을 감소시켰다. 그리고 분자량이 다른 두 개의 고분자 머무름 시간 차를 증가시켜 분리능을 향상시켰다.

ABSTRACT. The influence of gravitational effect on the retention behaviors of polystyrene (PS) and polymethylmethacrylate (PMMA) in flat type thermal field flow fractionation (Thermal FFF) was studied. In the case of downward flow of mobile phase, the gravitational effect acting in the same direction of mobile phase flow increases as the angle of the system from the horizontal line (0° to 60°) increases. The decrease of retention time of PS & PMMA was found. Also, the increase of dimensionless λ values was found. And the difference in the retention time of PS & PMMA having different molecular weight decreases and also the resolution decreases. In the case of upward flow of mobile phase, the gravitational effect acting in the opposite direction of mobile phase flow increases as the angle of the system from the horizontal line (0° to 60°) increases. The increase of retention time of PS & PMMA was found. Also, the decrease of dimensionless λ values was found. And the difference in the retention time of PS & PMMA having different molecular weight increases and also the resolution increases.

서 론

최근들어 고분자 물질의 이용은 생활필수품에는 물론 국민의 건강과 관련하여 날로 심하게 지고있는 환경문제와 인간과 관계된 혼합물의 분리 및 특성 연구를 요하는 환경공학, 의학, 생물학, 생물공학,

농학, 건축, 통신 등 여러 분야에 이르기까지 확대 되고 있어 고분자 물질의 화학적 특성 연구와 분리 방법의 개발은 중요한 연구분야이다. 거대분자의 분리는 세계적으로 분리과학자들의 관심 및 활동을 유발시켜 왔으며, 거대분자의 분리 방법으로는 역상,

이온교환, 친화(Affinity), 크기 배제 크로마토그래피 (Size Exclusion Chromatography, SEC), 전기 영동 (Electrophoresis) 및 침강장(Sedimentation), 열장 (Thermal), 흐름장(Flow) 등을 이용한 장 흐름 분획법(Field Flow Fractionation, FFF) 등이 있으며, 어떤 면에서는 이러한 다양한 분석들이 경쟁적 측면도 있으나 대부분 보완적인 성격을 띠며, 복잡한 구성을 가진 거대분자를 분석하는데 선택적으로 사용된다. FFF는 마치 강물이 흐르면서 바위, 자갈, 모래가 분리되듯이 평면 또는 원통형의 채널(Channel)에 이동상의 흐름을 주어 시료 성분의 분리와 분획(Fractionation)를 하는 것이다. FFF는 거대분자 (Macromolecules), 콜로이드(Colloid) 및 세포크기 정도의 입자(Particles)들을 분리하는 여러 기술을 통칭한다. 이들 중에서 가장 최근에 개발된 방법이 장 흐름 분획법이며 1960년대 중반 J. C. Giddings에 의해 고안된 후²⁻⁴ 많은 연구가 진행되어 현재에는 크기 배제 크로마토그래피와 더불어 고분자 물질의 분리 및 특성 연구에 많이 이용되고 있다. FFF는 장치와 이론이 간단하여 수학적 접근이 용이하며, 작동 조건의 조절이 쉽고, 용매 조성의 선택이 용이하므로 시료 성분의 안정성 및 분리능을 극대화할 수 있고, 고정상을 사용하지 않으므로 시료의 변성을 야기하지 않고, 장의 세기를 프로그램화하여 외부장의 세기를 점차적으로 줄이면 분자량 분포가 넓은 시료를 효율적으로 분리할 수 있는 등의 장점으로 인해 많은 분리 기술자들의 관심을 모으고 있다.^{5,6} 여기서 중력효과를 이용한 FFF는 가장 최근에 발표된 외부장을 중력장으로 이용하는 Gravitational FFF가 있으며, 콜로이드 입자들의 분석에 이용되고 있다.^{7,8} 본 연구에서는 아직까지 Thermal FFF에서 이동상의 흐름 각도에 따른 중력효과에 관한 연구가 거의 없어, 외부장을 온도차(temperature difference) 또는 열장(thermal field)으로 하는 평판형 Thermal FFF 장치를 직접 제작하였고, 타 FFF 장치에 비하여 간단하며, 유기용매에 녹는 고분자 시료의 분석에 용이하므로 고분자의 머무름 거동 관계를 연구하고, 고분자의 최적에 분리조건을 찾아 다양한 응용성을 바탕으로 한 분석기기로서의 전망 등을 고찰하여 보고자 한다. FFF는 좁은 유로(channel)내에 이동상의 흐름을 층류(laminar flow)로 흐르게 하고 cha-

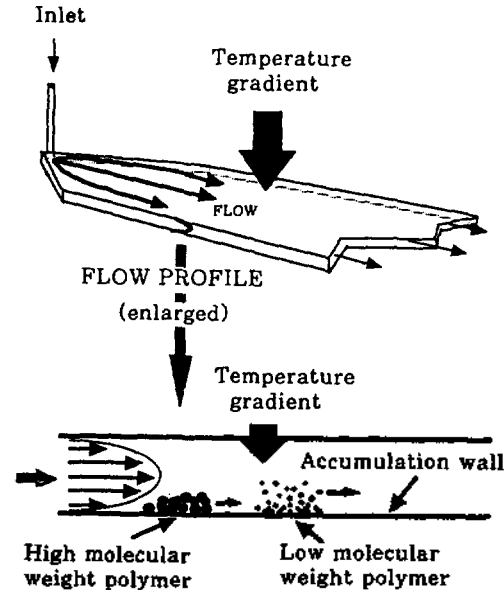


Fig. 1. Schematic diagram of field flow fractionation normal mode.

nel의 수직 방향으로 외부장(driving force)을 가함으로써 혼합물을 선택적으로 분리하는 기술이다. 그 원리에 대한 도해적 설명이 Fig. 1에 잘 나타나 있다. 그림에서 보면 매끄럽게 연마된 두 평판 사이의 얇은 유로 사이를 이동상이 흐르는데 유속이 충분히 느리면(Reynolds number, $Re < 2100$) 이상적인 경우, 포물선 형태의 속도 분포가 형성된다. 시료 주입기(injector)를 통해 용질을 주입하면 두 벽면 사이의 온도차와 열확산(thermal diffusion)에 의해 용질들이 차가운 벽면(축적벽, accumulation wall)으로 압착된다. 이때 형성된 용질의 농도구배(concentration gradient)는 필연적으로 엔트로피가 증가하려는 열역학 제 2법칙에 의해 열확산의 반대 방향으로 확산(normal diffusion)을 야기시키고 정상 상태가 설정되면 용질은 분자량의 크기에 따른 지수적인 분포를 나타낸다. 흐름 가운데 부분의 이동상 속도가 가장 빠르므로 제일 윗 부분에 위치한 저분자로부터 용출이 시작되고 분리는 이루어진다.^{9,10}

이때 이상적인 층류흐름을 나타내는 수학적 관계식은 다음과 같다.

$$R = 6\lambda [\coth(2\lambda)^{-1} - 2] \quad (1)$$

여기서 R 은 머무름 비이고 λ 는 channel 두께에 대한

용질층의 평균 두께이다. (1)식은 용매의 점도와 열전도도를 고려하지 않은 식이다. 여기서 구한 λ 는 온도의 함수인 용매의 점도와 열전도도를 감안하여 구했다.

$$\frac{1}{\eta} = a_0 + a_1T + a_2T^2 + a_3T^3 \quad (2)$$

상수 a_i 는 다양한 온도에서 점도 데이터가 (2)식에 따라 맞추어질 때 발견될 수 있는 경험적인 상수이다.

열전도도, κ 의 온도 의존은 보통 다음과 같이 표현된다.

$$\kappa = b_0 + b_1(T - T_c) \quad (3)$$

b_0 와 T_c 는 각각 열전도도와 차가운 벽에서의 온도

이다. 변수 b_1 는 대개 d_c/dT 로서 표시되는데, 실험 온도 범위에서는 상수로 고려된다.¹¹

실험장치

본 실험에 사용된 열장 흐름 분획장치는 자체설계 및 제작하여 사용하였고, Fig. 2에서 system의 구조를 자세하게 설명하였다. 구성요소를 보면 HPLC (High Performance Liquid Chromatography) system에서 분리관(column)을 FFF channel로 대체시킨 것으로, 이동상(mobile phase) 저장 용기, pump, 시료 주입기, 분리가 일어나는 channel, 검출기, 기록계, 열장을 조절하기 위한 온도 조절기와 boiling point을 높이기 위한 back pressure regulator로 구성되어 있다.

Pump는 Waters사의 510을 사용하였으며, 시료 주입기는 U6K injector, 검출기는 Waters Tunable 486 UV Detector와 RI Detector를 사용하였다.

열장 흐름 분획장치(ThFFF system). 가장 핵심 부분인 ThFFF system은 Fig. 3에 자세히 나타나 있다. 두께 30 mm, 폭 50 mm, 길이 600 mm인 구리판 2개를 크롬 도금하여 표면을 매우 매끄럽게 연마하였다. 뜨거운 면의 구리판을 위, 아래 양면을 가공하여 channel 길이를 두 가지로 할 수 있게 하였고, 구리판 사이에는 mylar film을 재단하여 유로가 형성될 수 있게 하였다. 유로의 크기는 두께 0.127 mm, 폭 20 mm, 길이 543 mm이고, 이동상이 측면으로부터 유입됨으로 인해 야기될 수 있는 흐름의 변형을 최소한으로 줄이기 위해 유로의 유입

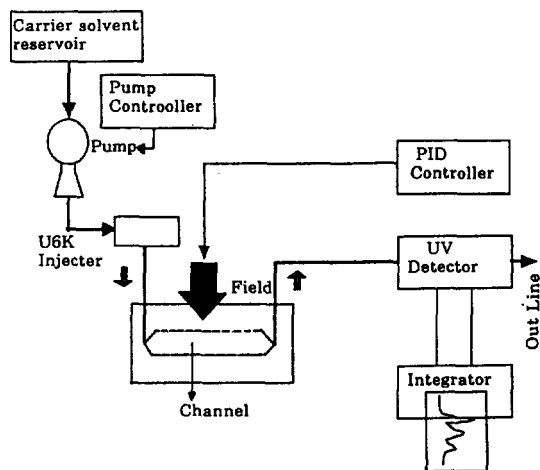


Fig. 2. Schematic diagram of FFF system.

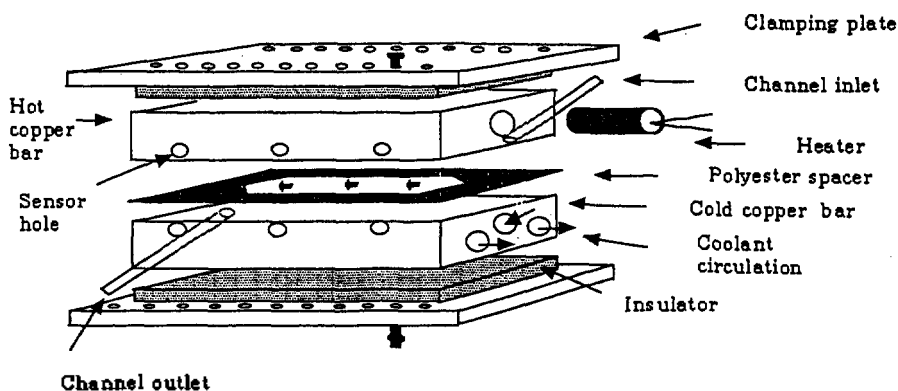


Fig. 3. Schematic diagram of thermal FFF.

Table 1. Molecular weight of polymers reported by the suppliers

Polymer	Supplier	M _w	M _n	μ
PS	SHOWA	66,437	64,571	1.03
	DENKO	156,055	152,345	1.03
		455,645	438,443	1.04
PMMA	Polymer Laboratories	63,654	60,197	1.06
		95,102	92,002	1.04
		330,120	311,665	1.06

Table 2. Physical properties of the carriers

Property	Carrier THF
Boiling point at 1 atm (°C)	65.97
Viscosity at 20 °C (cP)	0.575
Solubility parameter at 25 °C (cal ^{1/2} cm ^{-3/2})	9.9

부분에 폭 0.6 mm, 길이 15 mm인 홈을 만들었다. 24개의 구멍을 뚫은 강철판을 제작하여 두 구리판 사이 에 넣고 토크렌치를 이용해 850 cm-lb_t로 균일 하게 조일 수 있었다. 균일한 조임을 위해 가운데부터 대각선으로 조여나갔다. 열손실을 줄이기 위해 강철 판과 구리판 사이에 은박지로 씌운 석면을 넣었다.

시료와 이동상. 본 연구에서 사용한 시료는 유기용매에 녹으며, 고분자 분석에 용이한 Shodex standard인 polystyrene(PS)와 Polymer Laboratories 사의 polymethylmethacrylate(PMMA) 표준 시료를 사용하였다. PS, PMMA는 열에 의한 열화현상이 나타나므로 Thermal FFF 장치로 분석할 수 있으며, 시료의 용매는 이동상과 같게 하였고, 시료의 농도는 0.3~1.0 mg/mL 범위로 하였다. 시료는 녹인 후, 일정 크기 이상의 시료를 제거하기 위해 pore 직경이 0.5 μm인 주사기용 filter를 사용하였으며, 고분자 시료의 분자량을 Table 1에 나타내었다. 이동상은 HPLC용 Tetrahydrofuran(J. T. Baker Inc.)을 사용 하였으며, 이동상은 0.5 μ 유기용 filter로 기포를 제거한 후 사용하였다. 이동상의 물리적 성질을 Table 2에 나타내었다.

실험방법

장치를 setting한 후 위쪽 구리판의 구멍에 넣은 220V 1000W짜리 cartridge heater에 전원을 넣고,

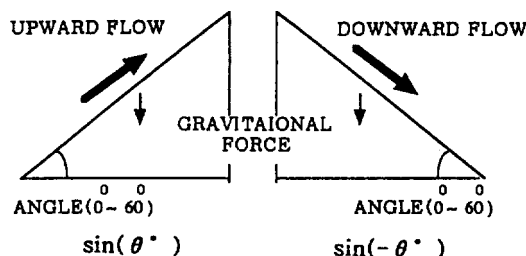


Fig. 4. Schematic diagram of angle experiment.

수돗물을 아래 구리판으로 순환시킨 다음 pump를 가동시켜 정상 상태에 도달할 때까지 이동상을 흘러보았다. 관벽의 온도는 수도물의 유량으로 조절할 수 있었고, 뜨거운 벽의 온도는 PID controller의 setting 온도를 조절하여 변화시켰다. 정확한 온도 측정을 위해 구리판의 channel에 가까운 지점에 6.5 mm 구멍을 여러 개 뚫어 thermocouple sensor를 넣었다. 시료의 주입은 25 μL 주사기를 이용해 미리 제조된 시료를 주입하여 각각의 조건 변화에 따른 머무름의 변화를 살펴보았다. 유속은 일정하게 유지 하고 Fig. 4와 같이 열장흐름분획장치를 하향 흐름 방향과 상향 흐름 방향으로 각도를 줌으로써 실험을 하였다.

실험결과 및 고찰

하향 흐름에 대한 중력 효과의 영향. 본 연구에서 하향 흐름에 대한 중력효과에의 영향은 열장 흐름 분획 장치를 수평면에서 하향 흐름으로 각도를 줌으로써 형성할 수 있었다. 유속은 일정하게 유지시켰으며, 열장의 세기는 일정한 온도(ΔT)로 유지시켰으며, 중력 효과의 영향을 나타내기 위하여 x축은 각도($0\sim 60^\circ$)에 따른 sine값으로 나타내었다. 하향 흐름에서 각도에 따른 에틸벤젠의 머무름을 이동상이 THF일 때 측정하여 보았더니, Fig. 5에서 도시한 것과 같이 흐름이 다른 두 Ethylbenzen의 머무름 시간은 하향 흐름의 각도와 무관함을 알았으며, 이는 Ethylbenzen의 분자량이 작기 때문에 중력의 영향을 거의 받지 않기 때문이다. 하향 흐름의 각도에 따른 PS의 머무름 시간은 이동상을 THF를 사용하였을 때, 각도가 높아질 수록 Fig. 6을 통해 알 수 있듯이 머무름 시간은 감소함을 알았고, 이유는 PS의 분자량이 크기 때문에 수평면과 하향 흐름 각도가 증가할 수록 중

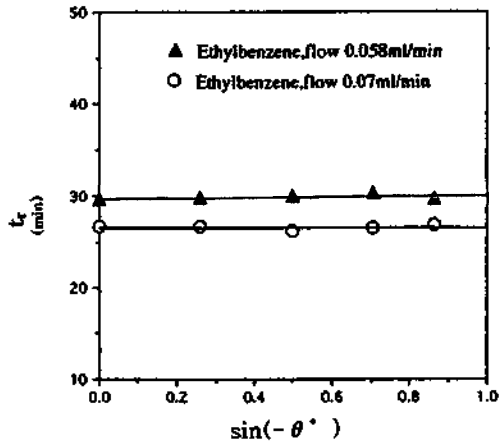


Fig. 5. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system downward angle to horizontal surface for ethylbenzene. $\omega=127 \mu\text{m}$; $\Delta T=43.5 \text{ K}$; $T_c=294 \text{ K}$; flow=0.058 mL/min, $\omega=127 \mu\text{m}$; $\Delta T=42 \text{ K}$; $T_c=296.15 \text{ K}$; flow=0.07 mL/min.

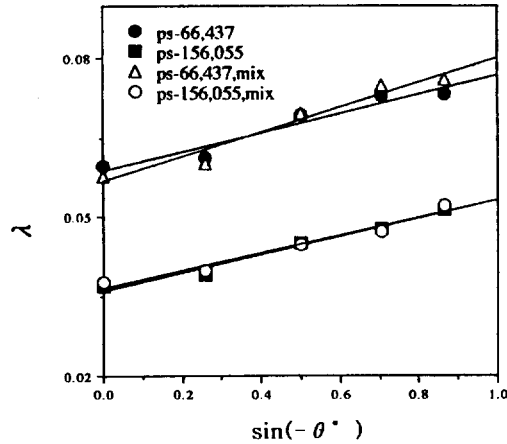


Fig. 7. λ value vs. thermal FFF system downward angle to horizontal surface for polystyrene with different molecular weights in tetrahydrofuran. $\omega=127 \mu\text{m}$; $\Delta T=43.5 \text{ K}$; $T_c=294 \text{ K}$; flow=0.058 mL/min.

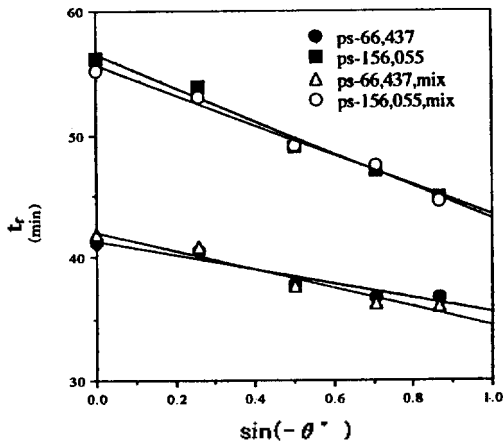


Fig. 6. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system downward angle to horizontal surface for polystyrene with different molecular weights in tetrahydrofuran. $\omega=127 \mu\text{m}$; $\Delta T=43.5 \text{ K}$; $T_c=294 \text{ K}$; flow=0.058 mL/min.

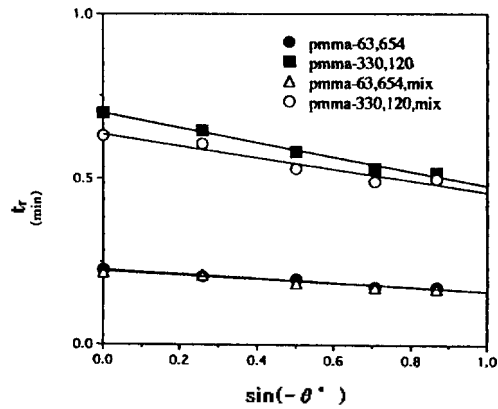


Fig. 8. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system downward angle to horizontal surface for polymethylmethacrylate with different molecular weights in tetrahydrofuran. $\omega=127 \mu\text{m}$; $\Delta T=42 \text{ K}$; $T_c=296.15 \text{ K}$; flow=0.07 mL/min.

력의 영향을 많이 받아 빨리 용출되는 것임을 발견하였다. 머무름 시간을 이용하여 무차원 변수 λ 의 값을 용매의 점도와 열전도도를 고려하여 구했다. Fig. 7는 각도에 따른 λ 의 값을 도시한 것이다. 각도가 증가할수록 λ 의 값은 증가함을 알 수 있었다. 이는 PS의 머무름 시간이 감소하기 때문이다. 하향 흐름 각도에 따른 PMMA의 머무름 시간은 이동상용

PS와 같은 THF를 사용하였을 때, Fig. 8에서 각도에 따른 머무름 시간을 나타내었다. 각도가 증가할수록 머무름은 감소하였고, 이것으로 λ 값은 증가함을 알 수 있었다. 이는 PMMA의 분자량이 크기 때문에 수평면과 하향 흐름 각도가 증가할수록 중력 효과를 많이 받아 빨리 용출되는 것이다.

상향 흐름에 대한 중력 효과의 영향. 상향흐름에 대한 중력효과 영향은 열장 흐름 분획 장치를 수평면과의 상향 흐름 각도를 줌으로써 형성할 수 있

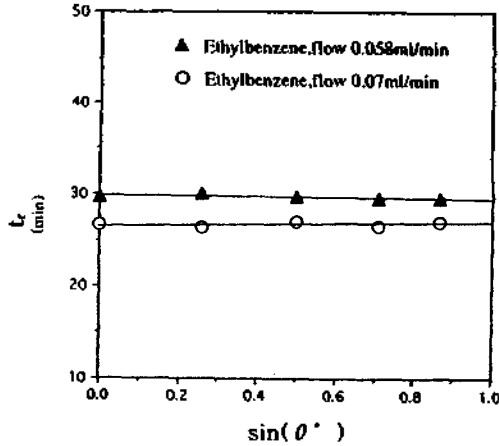


Fig. 9. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system upward angle to horizontal surface for ethylbenzene. $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 43.5 \text{ K}$; $T_c = 294 \text{ K}$; flow = 0.058 mL/min , $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 42 \text{ K}$; $T_c = 296.15 \text{ K}$; flow = 0.07 mL/min .

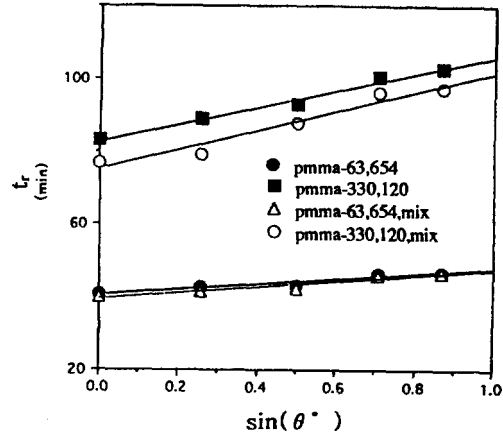


Fig. 11. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system upward angle to horizontal surface for polymethylmethacrylate with different molecular weights in tetrahydrofuran. $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 41 \text{ K}$; $T_c = 297.15 \text{ K}$; flow = 0.07 mL/min .

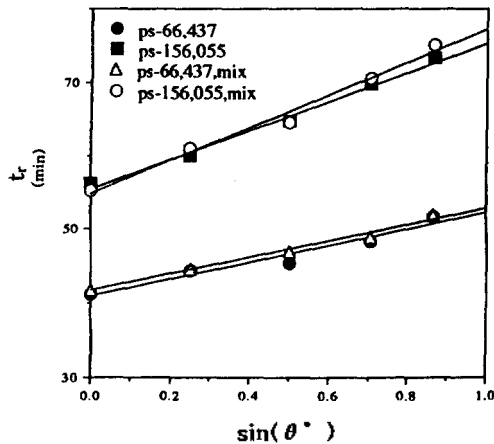


Fig. 10. Retention time, t_r , vs. thermal FFF system upward angle to horizontal surface for polystyrene with different molecular weights in tetrahydrofuran. $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 43.5 \text{ K}$; $T_c = 294 \text{ K}$; flow = 0.058 mL/min .

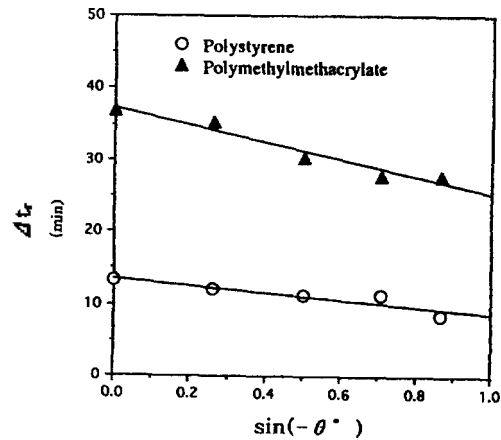


Fig. 12. Retention time difference, Δt_r , vs. thermal FFF system downward angle to horizontal surface for polystyrene and polymethylmethacrylate with different molecular weights in tetrahydrofuran. ps $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 43.5 \text{ K}$; $T_c = 294 \text{ K}$; flow = 0.058 mL/min , pmma $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 42 \text{ K}$; $T_c = 296.15 \text{ K}$; flow = 0.07 mL/min .

있고, 각도의 방향만 다를 뿐 실험조건 및 방법은 하향 흐름과 같게 하였다. 상향 흐름에서도 하향 흐름과 동일한 조건으로 Ethylbenzen의 머무름을 측정하였으며, 결과는 Fig. 9에서 보였듯이 하향 흐름과 같은 결과를 얻었다. 상향 흐름의 각도에 따른 PS 머무름 시간은 각도가 증가할 수록 Fig. 10을 통해 알 수 있듯이 머무름 시간도 증가하였고, 이

것으로 λ 값은 감소함을 알 수 있었다. 이는 PS의 분자량이 크기 때문에 수평면과 상향 흐름 각도가 증가할 수록 늦게 용출되는 것이다. 상향 흐름에서 각도별 PMMA의 머무름 시간은 Fig. 11에서 나타냈으며, PS와 같이 상향 흐름일 때 머무름은 증가하였고, λ 값은 감소함을 알 수 있었다.

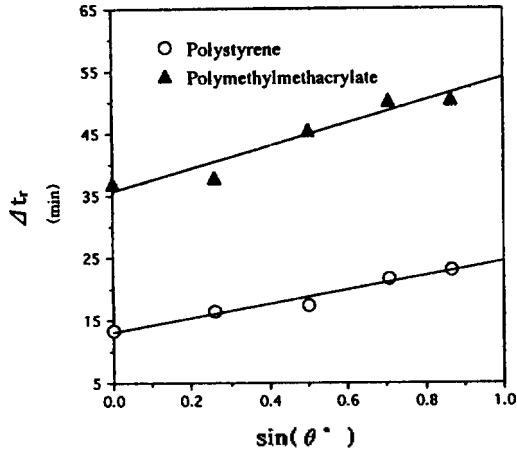


Fig. 13. Retention time difference, Δt_r , vs. thermal FFF system upward angle to horizontal surface for polystyrene and polymethylmethacrylate with different molecular weights in tetrahydrofuran. ps $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 43.5 \text{ K}$; $T_c = 294 \text{ K}$; flow = 0.058 mL/min , pmma $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 42 \text{ K}$; $T_c = 296.15 \text{ K}$; flow = 0.07 mL/min .

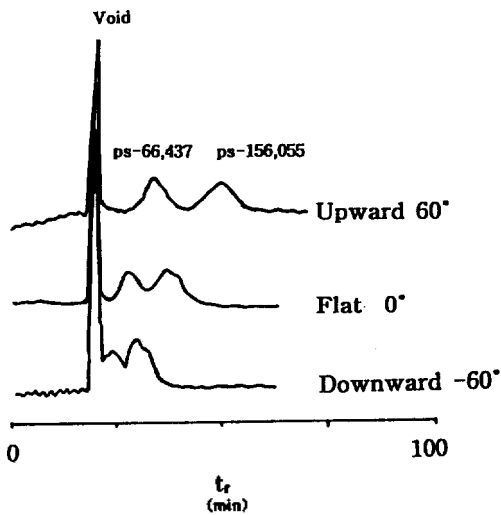


Fig. 14. Retention time difference for downward 60° , 0° , upward 60° , solute=PS 66,437 and 156,055 in THF. $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 43.5 \text{ K}$; $T_c = 294 \text{ K}$; flow = 0.058 mL/min .

분리능에 대한 중력 효과의 영향. 하향 흐름에 대한 분자량이 다른 PS 66,437과 156,055의 머무름 시간 차이와 PMMA 63,654과 330,120의 머무름 시간 차이를 Fig. 12에서 나타내었다. 분리능은 두 분자간

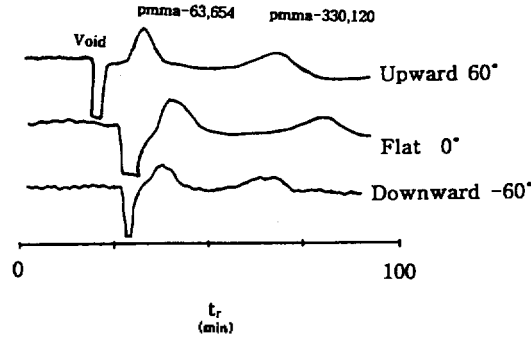


Fig. 15. Retention time difference for downward 60° , 0° , upward 60° , solute=PMMA 63,654 and 330,120 in THF. $\omega = 127 \mu\text{m}$; $\Delta T = 41.5 \text{ K}$; $T_c = 296.5$; flow = 0.07 mL/min .

머무름 시간 차이에 의해 이루어지므로 머무름 시간의 차이가 커진다면 선택도는 커지고 분리능이 향상된다고 볼 수 있다. 하향 흐름에서는 머무름 시간의 차이가 감소함으로 분리능이 저하됨을 알 수 있었고, 이는 두 고분자 시료의 분자량 크기에 관련이 있으며, 큰 고분자의 경우 중력효과를 더 많이 받기 때문이다. 상향 흐름에 대한 분자량이 다른 PS 66,437과 156,055의 머무름 시간 차이와 PMMA 63,654과 330,120의 머무름 시간 차이는 Fig. 13에서 함께 나타냈다. 상향 흐름에서는 머무름 시간의 차이가 증가함으로 분리능이 향상됨을 알 수 있었다. 이는 두 고분자 시료의 분자량 크기에 관련이 있으며, 큰 고분자의 경우 중력효과를 더 많이 받기 때문이다. Fig. 14와 15은 머무름 시간에 대한 Fractogram을 나타내었다. 하향 흐름에서 상향 흐름으로 각도가 증가할 수록 분리능이 향상됨을 알 수 있었다.

결론

평판형 열장 흐름 분획 장치에서 중력 효과에 의한 PS와 PMMA의 머무름 거동에 관한 연구로부터 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 수평면으로부터 열장 흐름 분획장치의 각도가 하향 흐름일 경우 흐름과 같은 방향으로 작용하는 중력 효과에 의하여 시료의 머무름 시간은 감소하고, 무차원 변수 λ 값은 증가하였다.
2. 수평면으로부터 열장 흐름 분획장치의 각도가 상향 흐름일 경우 흐름과 반대 방향으로 작용하는

증력 효과에 의해 시료의 머무름 시간은 증가하고, 이에 따른 머무름비와 무차원 변수 λ 의 값은 감소하였다.

3. PS와 PMMA의 머무름 시간의 차이는 하향 흐름에서는 각도가 증가함에 따라 감소하고, 상향 흐름에서는 각도가 증가함에 따라 값도 증가함을 볼 수 있었으며, 이를 통하여 분리능은 하향 흐름에서 각도가 증가됨에 따라 감소하고, 상향 흐름에서는 증가하였다.

본 연구는 연세대학교 교내 학술연구비로 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

1. Williams, P. S.; Giddings J. C. *Anal. Chem.* 1987,

- 59, 2038~2044.
 2. Giddings, J. C. *Sep. Sci.* 1966, 1, 123~125.
 3. Giddings, J. C. *Anal. Chem.* 1981, 53, 1170A~1175 A.
 4. Giddings, J. C. *C & EN.* 1988, 66, 34~45.
 5. Giddings, J. C.; Yang E. J.; Myers M. N. *Anal. Chem.* 1974, 46, 1924~1930.
 6. Williams, P. S.; Giddings, J. C. *Anal. Chem.* 1987, 59, 2038~2044.
 7. Pazourek, J.; Chmelik, J. *Chromatographia* 1993, 35.
 8. Reschiglian, P.; Torsi, G. *Chromatographia* 1995, 40.
 9. Schimpf, M. E. *J. Chromatogr.* 1990, 517, 405~421.
 10. Giddings, J. C. *Sep. Sci. Technol.* 1984, 19, 831~847.
 11. Van Asten, A. C.; Kok, W. Th.; Tijssen, R.; Poppe, H. J. *Chromatogr.* 1994, A676, 361~373.