

Round Robin Test 1 - 폴리스타이렌 시료의 겔 투과 크로마토그래피 분석

권 균 · 장 태 현

1. 서 론

합성 고분자는 분자량 분포를 가지므로 분자량을 표현할 때 평균 분자량의 개념을 사용하며, 또한 평균 분자량이 같더라도 분자량 분포가 달라짐에 따라 고분자 시료의 전체적인 물성은 큰 영향을 받게 된다. 그러므로 정확하고 정밀한 분자량 분포의 측정에는 고분자의 분석 (characterization)에 있어 가장 기본적인 단계이다. 고분자의 평균 분자량은 광산란 (light scattering), 삼투압 (osmometry), 그리고 점성도 (viscometry) 측정법으로 측정될 수 있으나 분자량 분포는 대부분 액체 크로마토그래피 (liquid chromatography)의 일종인 겔 투과 크로마토그래피 (gel permeation chromatography; GPC)에 의해서 측정된다. GPC는 고분자를 이동상 용매 내에서의 유체역학적 크기 (hydrodynamic size)에 따라 분리하므로 같은 머무름 부피에서 용출되는

고분자는 사슬의 크기가 같다.^{1,2} 따라서 선형 단일 중합체 (linear homopolymer)의 경우 사슬의 크기와 분자량 사이의 관계를 이용하여 분자량을 쉽게 결정할 수 있다. GPC는 다른 HPLC 방법에 비해서 띠 넓어짐 현상 (band broadening)이 상대적으로 커 음이온 중합으로 만들어진 시료와 같은 분자량 분포가 매우 작은 시료는 정확한 분자량 분포를 측정할 수 없다는 단점이 있고,³ 또한 사슬의 크기에 따라 분리하기 때문에 공중합체나, 곁가지를 가진 고분자의 경우 분자량에 따라 분리할 수 없는 등의 제약이 있다.^{4,5} 그러나 고분자 시료의 분자량과 분포에 대한 기본적인 정보를 빠른 시간 내에 얻을 수 있으며, 또한 광산란이나 삼투압 측정과 같은 분자량 측정법에 비해서 사용하기가 쉽다는 장점이 있어 고분자의 분자량 분포를 측정하는데 가장 널리 사용되고 있는 방법이다.^{1,2}

그러나 정확한 GPC 분석을 위해서는 최적의 실



권 균
2001 포항공과대학교 화학과 (이학사)
2001~ 현재 포항공과대학교 화학과 (석사 과정)



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

GPC Characterization of Polystyrenes: Round Robin Test 1

포항공과대학교 화학과 (Kyoon Kwon and Taihyun Chang, Department of Chemistry, Pohang University of Science and Technology, Pohang 790-784, Korea)

험조건을 찾는 것이 중요하며, GPC로부터 얻은 크로마토그램을 어떻게 처리하는가에 따라 서로 얻어지는 평균 분자량과 그 분포값이 상당히 달라질 수 있다. 또한 실험자와 실험 조건에 따라 재현성에 많은 영향을 받는 것이 사실이다. 이런 이유에서 GPC 분석 장비를 보유한 여러 실험실에서 동일한 시료를 분석하고, 그 결과를 종합하여 보다 정확한 실험을 위해 개선점을 토의하는 일종의 표준화 작업으로 round robin test가 행하여지고 있다. 1991년, 일본에서는 Aida 등의 제안으로 21개의 실험실이 참여하여 몇 가지 polystyrene 시료에 대해 처음으로 round robin test를 실시했으며 그 결과를 바탕으로 GPC분석의 표준화를 위한 시도를 하였다.⁶ 그 후, 유럽에서 IUPAC의 관련 그룹들이 주체가 되어 보다 체계적이고 조직적으로 실험한 결과를 발표하였고 특정 조건에서의 GPC 분석에 대해 표준화된 방법을 제시하기도 하였다.⁷ 특히, 1996년에는 Lederer 등이 분자량 분포 차이가 큰 두 가지 폴리프로필렌 (polypropylene) 시료를 14 곳의 실험실에서 고온 GPC로 분석한 결과를 발표하였는데,⁸ 이후에도 비선형의 복잡한 구조를 가지는 시료의 분석 등 보다 까다로운 조건에서의 실험에 대해서도 꾸준히 round robin test가 이루어져 왔다. 또한 처음에는 단순히 서로의 결과만을 비교하던 데서 발전하여 보다 체계적인 표준을 마련하고 실험의 개선책을 찾기 위한 시도가 계속되고 있다.⁹⁻¹¹ 이와 같이 국외에서는 round robin test를 통하여 정밀하고 정확한 GPC 분석을 추구하고 있다. Round robin test는 측정의 재현성 (reproducibility) 과 반복성 (repeatability)에 대한 고찰에서 출발한다.¹² 재현성이란, 동일한 시료를 서로 다른 실험실에서 다른 장비로 분석하여 얻은 결과들로부터 결정되는 측정의 정밀도 (precision)를 의미한다. 이와 비교하여 반복성이란 같은 시료를, 같은 실험자가, 같은 기기로 짧은 기간 내에 분석한 결과들이 보이는 정밀도를 의미한다.

우리나라는 에틸렌생산 기준으로 세계 5위 권에 드는 거대한 석유화학산업을 보유하고 있으며, 따라서 수 많은 GPC 기기가 다양한 고분자 물질의 연구개발 내지는 품질점검 차원의 분석에 활용되고 있다. 그러나 아직 GPC의 활용이 최적 조건에서 제대로 되고 있는지에 대한 상호 점검차원에서의 round robin test는 이루어진 바 없다. 본 연구에서는 국내에서 최초로 GPC 분석의 round robin test를

시도하였다.

2. 실험 및 결과

이번 round robin test에는 다음 네 연구실이 참여하였다 (KIST 생체재료연구센터, LG 화학 Tech Center 응용 기술팀, 서울대학교 화학과 윤도영 교수 연구실, 포항공과대학교 화학과 장태현 교수 연구실). 각 연구실의 GPC 분석 조건을 표 1에 정리하였으며, 참여 연구실은 무기명으로 A, B, C, D로 나타내었다. 실험에 제공된 시료는 두 가지의 폴리스타이렌 시료로, 라디칼 중합된 분자량 분포

표 1. GPC Experimental Conditions

Lab.	Columns Used	Eluent (Flow rate)	Concentration (injection volume)	No. of PS Standards
A	Shodex K-801, 803, 804, 806 (8 × 300 mm, 4 ea.)	Chloroform (1.0 mL/min)	0.25 wt% (100 μL)	11
B	Shodex KF-802, 803, 804, 805 (8 × 300 mm, 4 ea.)	THF (1.0 mL/min)	0.125 wt% (200 μL)	10
C	PLgel MIXED-C × 2 (7.5 × 300 mm, 2 ea.)	THF (1.0 mL/min)	0.06 wt% (100 μL)	7
D	Jordi Gel DVB Mixed Bed (7.8 × 300 mm, 1 ea.)	THF (1.0 mL/min)	1.5 wt% (20 μL)	9

표 2. Average Molecular Weights and Molecular Weight Distributions of PS1 and PS2 Measured by Four Laboratories

Lab.	PS1	PS2
	M_w, M_n (kg/mol) M_w/M_n	M_w, M_n (kg/mol) M_w/M_n
A	348, 142 2.45	65.4, 64.0 1.02
B (Ave. of 6)	265 ± 11, 82.8 ± 6 3.20 ± 0.11	54.2 ± 0.5, 45.2 ± 0.7 1.20 ± 0.01
C (Ave. of 5)	295 ± 10, 101 ± 6 2.92 ± 0.12	58.9 ± 1.6, 56.3 ± 1.5 1.04 ± 0.01
D (Ave. of 12)	273 ± 26, 87.6 ± 8 3.12 ± 0.18	52.6 ± 3.1, 48.7 ± 3.0 1.08 ± 0.01
Average ± standard deviation*	295 ± 32, 103 ± 23 2.92 ± 0.29	57.8 ± 5.0, 53.6 ± 7.2 1.09 ± 0.07

* Error range represents the one standard deviation.

가 넓은 것 (PS1)과 음이온 중합된 분자량 분포가 매우 좁은 시료 (PS2)이었다. 두 가지 시료에 대해 각 실험실에서 몇 차례 반복하여 구한 평균 분자량과 분자량 분포를 **표 2**에 나타내었다(연구실 A는 한 차례의 결과만 보내왔음). 또한 연구실 별로 대표적인 GPC 크로마토그램과 표준시료를 이용하여 얻은 검정곡선 (calibration curve)을 **그림 1**에 보였다.

그러나 서로 다른 칼럼들을 이용하여 얻은 GPC 크로마토그램을 서로 비교하는 것은 **그림 1**에서 보듯이 용이하지 않다. 결국 우리가 비교하고자 하는 결과는 분자량 분포이므로, 각 연구실에서 얻은 GPC 크로마토그램의 용출시간 (elution time) (또는 용출부피) 축을 분자량 축으로 변환하면 분자량 분포 곡선을 바로 얻을 수 있다. 이 방법의 수학적 인 과정을 보이면 다음과 같다. UV/Visible 흡광 검출기나 굴절률 검출기로 측정된 신호는 각 용출 시간에 용출되는 고분자의 질량농도를 나타내게 되며, 따라서 측정된 크로마토그램은 $w(t_R)$ vs. t_R 의 plot이 된다. 또한 고분자의 \log (분자량)은 GPC 용출시간의 함수로 나타낼 수 있다.

$$\log M = f(t_R) \text{ 또는 } d \log M = f'(t_R) \cdot dt_R \quad (1)$$

통상 분자량 분포가 좁은 폴리스타이렌 표준 시료들을 사용하여 얻은 검정곡선은 식 (1)을 용출시간의 다항식으로 나타낸 것이다.

이를 이용하여 GPC 크로마토그램의 $w(t_R)$ vs. t_R 의 plot을 $w(\log M)$ vs. $\log M$ 의 분자량 분포 plot으로 바꿀 수 있다. 각 용출시간에 용출된 크로마토그램의 slice의 크기 (즉 용출된 고분자의 질량)는 분자량 분포 곡선에서 해당 분자량의 분포치와 동일하여야 하므로,

$$w(t_R) \cdot dt_R = w(\log M) \cdot d \log M$$

$$\text{또는 } w(\log M) = \frac{dt_R}{d \log M} \cdot w(t_R) \quad (2)$$

와 같이 된다. 식 (2)에 식 (1)을 대입하면

$$w(\log M) = \frac{1}{f'(t_R)} \cdot w(t_R) \quad (3)$$

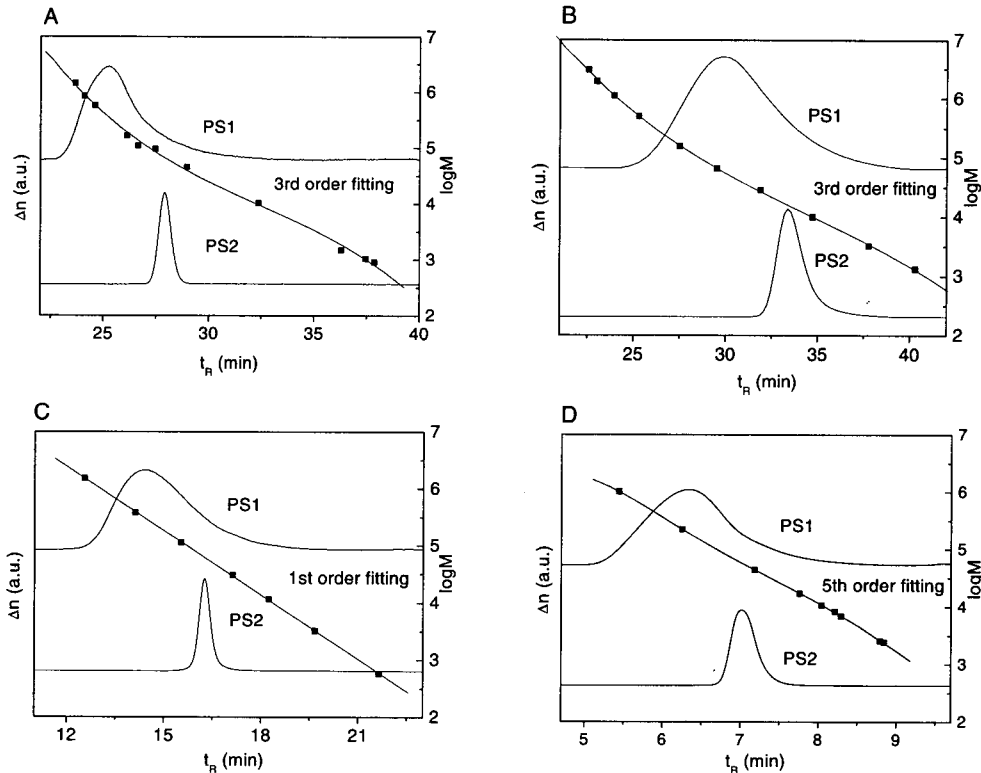


그림 1. 각 연구실에서 측정된 PS1과 PS2의 크로마토그램과 결과해석에 사용한 검정곡선.

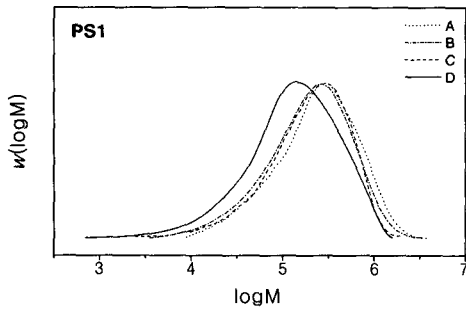


그림 2. PS1 시료에 대해서 각 연구실에서 측정한 $w(\log M)$ vs. $\log M$ 분자량 분포 곡선.

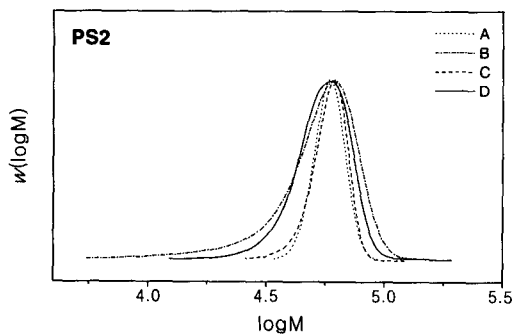


그림 3. PS2 시료에 대해서 각 연구실에서 측정한 $w(\log M)$ vs. $\log M$ 분자량 분포 곡선.

과 같이 된다. 따라서 사용한 칼럼의 검정곡선, $\log M = f(t_R)$ 을 이용하여 식 (3)에 따라 실제 실험에서 얻어지는 크로마토그램 (용출 시간에 따른 질량 분포 곡선)을 $\log M$ 에 따른 질량 분포 곡선, 즉 분자량 분포 곡선으로 변환시킬 수 있다.³ 이러한 과정을 통하여 구한 PS1과 PS2의 분자량 분포 곡선을 그림 2와 3에 나타내었다. 이 변환은 그림 1에 보인 각 연구실들이 보내온 raw data와 검정곡선을 이용하여 이루어졌으므로 변환에 있어 실험자의 개인차는 개입되지 않았다.

3. 분석 및 토의

원래 round robin test는 여러 연구실의 결과들을 종합하여 통계 처리함으로써 어떠한 결과가 신뢰성이 있는가를 판단하고 그러한 결과를 얻기 위한 최적 실험 조건을 추구하는 것이다. 본 연구는 첫번째 시도로서 홍보가 부족하여 충분한 숫자의 연구실이 참석하지 못한 관계로 소기의 목표를 추

구하지 못하였으나, 일단 얻어진 결과들을 검토함으로써 추후 test를 위한 기초 자료로 활용될 수 있기를 바란다.

3.1 재현성

앞서 서론에서 언급하였듯이, 분석 결과의 재현성과 반복성이 매우 중요하다. 반복성은 모든 분석 실험실에서 스스로 항상 점검하여야 하겠지만, 이러한 round robin test를 반복성 점검의 계기로 활용할 수 있다. Round robin test의 보다 중요한 목적은 동일한 시료를 다른 연구자가 다른 기기를 통해서 분석할 때의 재현성을 알아보는 것이다. 우선 표 2에 보인 네 개의 연구실에서 측정한 분자량의 평균치를 구하여 보면, PS1의 경우 $M_w = 295 \pm 32$ kg/mol, $M_n = 103 \pm 23$ kg/mol, $M_w/M_n = 2.92 \pm 0.29$ 이었으며, PS2의 경우 $M_w = 57.8 \pm 5.0$ kg/mol, $M_n = 53.6 \pm 7.2$ kg/mol, $M_w/M_n = 1.09 \pm 0.07$ 이었다. 여기서 오차범위는 네 연구실의 측정치의 표준편차를 나타낸다. 분자량 분포가 큰 PS2는 M_w 에서 11%, M_n 에서 22%의 오차범위를, 분자량 분포가 작은 PS2는 M_w 에서 9%, M_n 에서 12%의 오차범위를 보여 분자량 분포가 큰 고분자가 작은 고분자보다, 그리고 M_n 이 M_w 보다 더 큰 오차를 나타내는 경향을 보이고 있음을 알 수 있다. 이는 흔히 관찰되는 경향으로서 분자량 분포가 넓어지면 적당한 칼럼의 선택, 크로마토그램의 분석 방법 등에 따라 측정결과가 크게 영향을 받게 된다. 또 이번 실험과 같이 흡광 검출기나 굴절률 검출기와 같은 농도검출기 (concentration detector)를 사용하면 용출되는 시료의 질량농도를 측정하게 되므로 수 평균 값보다는 질량 평균 값이 더 큰 재현성을 가지는 일반적인 경향이 있다.

네 연구실의 분석 결과의 재현성을 표 2와 그림 2, 3의 분자량 분포 곡선을 비교하여 좀 더 상세히 검토하여 보자.

3.1.1 결과 해석에 있어서의 실험자의 영향

우선 표 2와 분자량 분포 곡선 사이의 경향이 일치하지 않는다는 사실에 주목할 수 있다. 그림 2에 보인 PS1의 경우, A, B, C의 분석결과는 그런대로 겹치는 분포 곡선을 보이는데 반하여, D의 분포 곡선이 작은 분자량쪽으로 크게 치우쳐 있음을 알 수 있다. 또한 A가 B, C에 비해서 약간 큰 분자량쪽으로 치우쳐 있음을 보이고 있다. 그러나 표 2를 보면 오히려 B의 분자량 값이 D의 값보다 작으며, A 실험실에서 얻은 값이 다른 측정치들에 비해서

두드러지게 큰 것을 알 수 있다.

분자량 분포 곡선과 계산된 평균 분자량 사이의 명백한 차이는 실험 데이터를 처리하여 계산값을 얻는 과정에서 생긴 것으로 예상할 수 있다. 현재 대부분의 GPC 분석 장비는 검출 신호를 받아들여 데이터를 처리하는 소프트웨어를 가지고 있으며, 실험자들이 자동화된 소프트웨어를 계산에 사용하는 것이 일반화되어 있다. 소프트웨어가 올바르게 작동하고 있다면 대부분의 차이는 크로마토그램의 적분구간의 결정 등과 같은 실험자의 판단에 의해서 발생하게 되며, 배경신호선(baseline)의 안정성에 크게 의존하게 된다. **그림 4**는 실험에서 얻어진 하나의 크로마토그램에 대해 배경신호를 다르게 적용하여 적분하였을 때 구해진 결과를 나타낸 것이다.

그림 4의 a, b 두 경우 왼쪽 그림들만을 서로 비교해 보면 기준선의 적용이 별 차이 없는 듯이 보이며, 따라서 결과에도 큰 차이를 가져오지 않으리

라고 예상하게 된다. 그러나 확대한 오른쪽 그림들을 비교하면 이러한 미소한 차이가 적분하여 계산한 분자량 값과 분자량 분포에 적지 않은 영향을 준다는 것을 확인할 수 있다. 실제 GPC 분석에 있어 배경신호의 안정도에 따라 어떻게 기준선을 잡아야 하는가는 규칙으로 정할 수 없는 문제이지만, 위의 예에서 보듯이 데이터 처리 과정의 사소한 차이에 의해서 생기는 결과의 오차가 작지 않다는 사실을 항상 염두에 둘 필요가 있다.

따라서 이들 실험 데이터들을 동일한 실험자가 처리하는 경우, 어떠한 차이를 나타낼 수 있는가를 확인하기 위해서 각 연구실에서 보내온 raw data를 동일한 소프트웨어를 이용하여 동일한 사람이 해석한 결과를 **표 3**에 나타내었다. **표 3**에서 알 수 있듯이 실험결과를 처리하는 주체에 따라 얻어지는 결과들이 상당히 달라질 수 있음을 보여준다. D의 실험결과로부터 **그림 2**에서 예측되는 것과 같이 크게 작은 PS1의 분자량을 얻을 수 있었으며, A

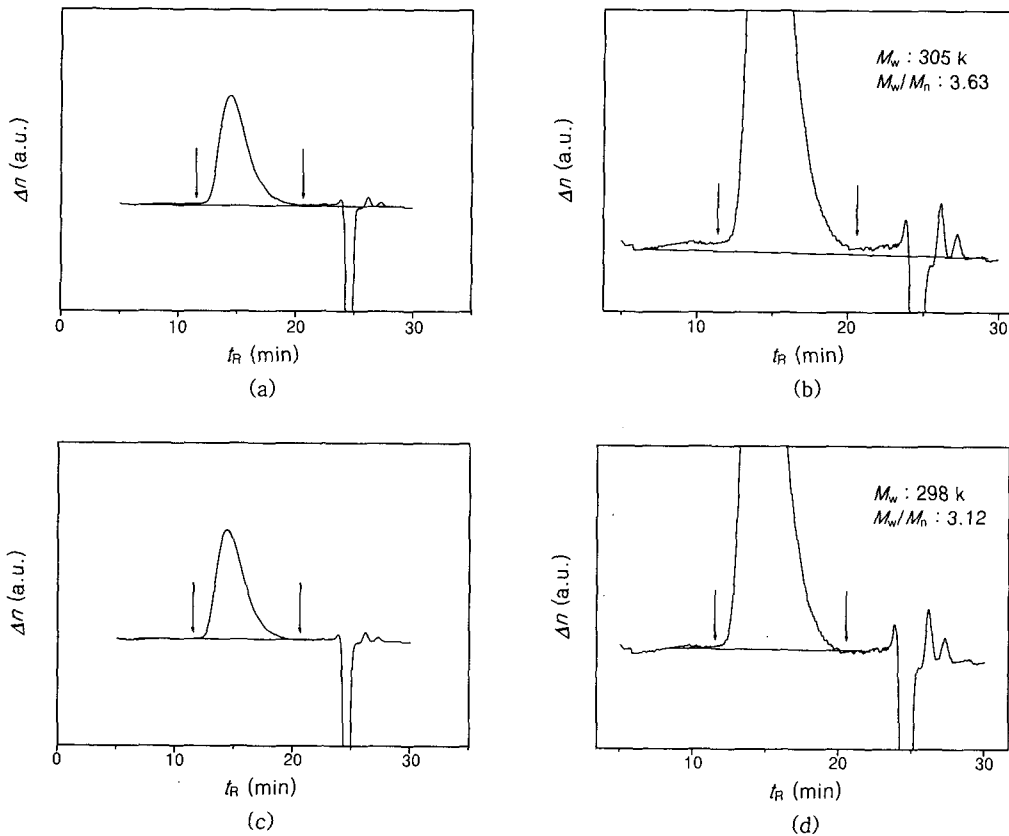


그림 4. 동일한 크로마토그램의 용출봉우리에 대하여 기준선을 다르게 적용함으로써 얻어진 분자량과 분포. 화살표는 적분구간을 나타낸다.

표 3. M_w , M_n and M_w/M_n recalculated from the Raw data

Lab.	PS1 (kg/mol) (M_w , M_n , M_w/M_n)	PS2 (kg/mol) (M_w , M_n , M_w/M_n)
A	310, 109, 2.85	64.0, 62.3, 1.03
B	265, 81.4, 3.27	54.6, 45.0, 1.21
C	289, 101, 2.85	59.4, 57.1, 1.04
D	224, 58.2, 3.85	55.6, 50.2, 1.08

도 B, C의 분석치와 상당히 근접하여진 것을 보여 주고 있다. 이 결과는 실험의 재현성을 확보하는데 있어 장비 사용의 측면 뿐 아니라 실험 데이터의 처리 과정에서 생기는 개인차의 요인도 중요하게 고려해야 함을 알 수 있다. 특히 이러한 차이는 분자량 분포가 큰 PS1에서 분포가 좁은 PS2보다 두드러지게 크게 나타남을 알 수 있다.

3.1.2 주입시료의 양

그렇다면 D의 분석 결과가 다른 연구실의 결과에 비해 유난히 작은 평균 분자량과 넓은 분자량 분포를 보이는 이유는 무엇일까를 생각하여 보자. 물론 본 연구에서와 같이 소수의 실험 결과를 가지고 어느 쪽이 더 정확할지를 판정하는 것은 무모한 일이지만, 실험조건에 따라 일어날 수 있는 가능성을 검토하는 입장에서 생각해 볼 수 있겠다. 우선 **표 1**을 볼 때 D의 분석 조건이 다른 연구실과 크게 다른 점이 몇 가지 있는데 그 중 하나가 주입한 시료의 농도가 매우 크다는 것이다. 주입부피가 작아, 가장 작은 양을 주입한 C의 경우와 비교하여 주입양에 있어서는 5배의 차이가 나지만 농도는 25배나 된다. PS1과 같이 분자량이 큰 시료를 분석할 때 1.5 wt%의 농도는 주입시료 용액의 점성도를 크게 높이게 되며 이는 viscose fingering과 같은 현상을 발생시켜 용출 피크를 넓어지게 하며, 용출시간을 단축시키는 경향이 있다.¹³⁻¹⁵ 적정한 시료의 주입량은 배경신호의 안정도, 검출기의 민감도 (sensitivity), 칼럼의 조합에 따라 적절히 변화시켜야 하겠지만 주입 시료의 농도와 부피에는 적정 범위가 있다. **표 4**는 Shodex™ 사에서 권장하는 GPC 분석에 적절한 시료 주입량이다. 크로마토그래피에서 떠 넘어짐 현상은 항상 일어나는 현상이지만 GPC는 주입시료의 양에 따라 크게 영향을 받으며, 주요 관심 사항인 분자량 분포 계산에 상당한 오차를 가져올 수 있다.

3.1.3 표준시료와 검정곡선

이러한 실험결과의 차이에 기여하였으리라고 생

표 4. Recommended Injection Amount of Sample for GPC Analysis

Molecular weight	Sample Concentration	Injection Volume
< 5,000	< 1.0 wt%	50 ~ 100 μ L
5,000 ~ 25 k	< 0.5 wt%	
25 k ~ 200 k	< 0.25 wt%	
200 k ~ 2,000 k	< 0.1 wt%	
> 2,000 k	< 0.05 wt%	

각되는 또 하나의 가능성으로 **그림 1**에 보인 표준시료를 이용한 검정곡선을 들 수 있다. 검정곡선을 이용하여 분자량 분포를 계산하는 경우, 표준시료의 분자량 범위는 분석하고자 하는 시료의 분자량 범위를 충분히 포함하여야 한다. **그림 1**에 보인 검정곡선의 모양은 사용한 칼럼에 따라 다르나, A와 D의 경우 PS1의 용출 봉우리의 큰 분자량 부분(짧은 용출시간 영역)을 충분히 포함하지 못하고 있는 것을 볼 수 있다. 특히 D의 경우, 5차 다항식에 맞추어 큰 분자량 쪽으로 위로 볼록한 curvature를 가지게 되었는데 이것은 정상적인 모양이 아니다. 통상 GPC 검정곡선은 고분자량 쪽으로는 total exclusion limit에 접근하는 거동을 보이며 아래로 볼록한 모양을 가지게 된다. 따라서 D의 경우, 고분자량 부분의 분자량이 실제보다 낮게 계산되었을 가능성이 커 보인다. A도 D와 같이 충분히 큰 분자량의 표준시료가 검정곡선에 포함되어 있지 않아 검정곡선의 오차가 계산값에 영향을 미쳤을 가능성이 있으나 전반적인 검정곡선은 정상적인 모양을 가지고 있다.

D의 경우 검정곡선을 만들기 위해서 5차 다항식을 사용하였는데 물론 고차 다항식을 사용할수록 표준시료의 용출 결과를 잘 맞출 수는 있으나 검정곡선이 다항식이 되어 갈수록 곡선의 양 끝의 개형은 크게 달라 질 수 있기 때문에 곡선의 끝 부분에 위치한 부분의 분자량 계산은 그 오차가 매우 커질 수도 있다. 따라서 충분히 넓은 분자량 범위의 표준시료를 사용하는 것이 무엇보다 중요하다.

3.1.4 칼럼의 조합

표 1에 보인 바와 같이 본 연구에 참여한 네 연구실은 모두 다른 칼럼의 조합을 사용하였다. A, B는 4개의 칼럼을 사용하였으며, C는 2개, D는 1개의 칼럼을 사용하였다. 또한 A, B는 서로 다른 공동 크기 (pore size)를 가지는 칼럼을 조합하였으며, C, D는 공동 크기가 다른 입자들을 섞어 충전한 mixed bed 칼럼을 사용하였다. 우선 **그림 1**에

서 알 수 있는 바와 같이 시료의 용출부피는 거의 사용한 칼럼의 개수에 비례하여 (칼럼의 내부 용적이 비슷하므로) 변화하는 것을 볼 수 있다. 같은 수의 같은 크기의 칼럼을 사용한 A와 B의 경우 용출부피에 차이가 생긴 이유는 사용한 칼럼의 조합에서 이해할 수 있다. **그림 5**는 A, B 두 연구실에서 사용한 Shodex사 칼럼의 폴리스타이렌 표준시료에 대한 검정곡선을 보인 것이다. 칼럼의 공동 크기에 따라 고분자 분자량에 대한 용출부피가 달라지게 된다. A 실험실에서 사용한 가장 작은 공동 크기의 칼럼인 KF-801은 분자량이 1,000을 넘어가면 total exclusion이 일어남을 알 수 있으며, **그림 2, 3**에 보인 분자량 분포를 감안할 때 PS1과 PS2의 분리에 거의 활용되지 않았을 것이다. 따라서 A의 용출부피가 B보다 작은 것을 이해할 수 있다.

Mixed bed 칼럼은 (KF-806M) 넓은 분자량 영역에서 $\log M$ 이 용출부피에 비례하는 검정곡선을 보이고, 그래서 선형 칼럼 (linear column)이라고도 부른다. C, D 실험실은 이러한 선형 칼럼을 사용하였으며 따라서 검정곡선이 A, B와 달리 선형에 가까운 모양을 가짐을 알 수 있다. 그러나 분해능은 검정곡선의 기울기가 작을수록 일반적으로 좋아진다고 할 수 있으며 (작은 분자량의 차이로 큰 용출부피의 차이를 나타내는) 이러한 의미에서 선형 칼럼이라고 특별히 나은 분해능을 보이는 것은 아니다. 분리하고자 하는 고분자의 분자량 범위에 맞

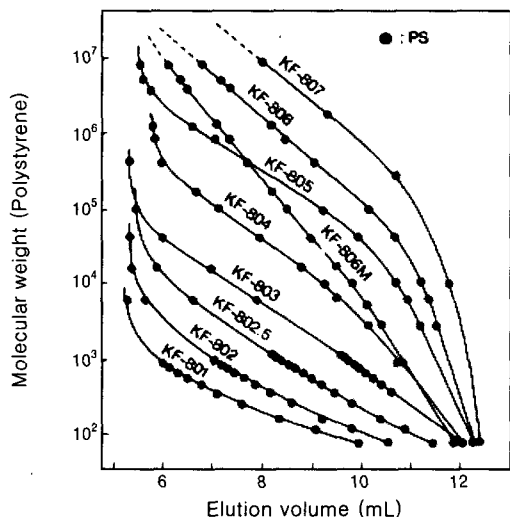


그림 5. Shodex사 GPC 칼럼 KF series의 폴리스타이렌 (PS) 표준시료에 대한 검정곡선.

추어 칼럼을 조합하여 사용하는 것이 최선의 방법이다. 칼럼의 적합한 조합이란 우선 시료의 분자량 범위를 충분히 포함할 수 있어야 하며, 시료의 분자량 부근에서 보다 높은 분해능을 가져서 검정곡선이 작은 기울기를 보여야 함을 의미한다. 그러나 대부분의 경우 시료의 분자량에 대한 사전 정보가 없을 것이며, 또한 칼럼을 바꾸는 것이 불편하기 때문에 작은 분자량부터 매우 큰 분자량까지 넓은 영역에 걸쳐 분석이 가능하도록 공동 크기가 다른 칼럼들을 조합하거나, 선형 칼럼을 선택하게 된다. 이러한 관점에서 네 연구실에서 사용된 칼럼들은 적절한 조합이었다고 판단된다. 단지 D의 경우 한 개의 칼럼만을 사용한 것은 충분한 분해능을 얻기에 부족하지 않았나 판단된다.

3.1.5 분석시료의 분자량 분포에 따른 영향

PS2에 대한 **표 2**의 분석결과를 보면 앞서 언급한대로 분자량 분포가 넓은 PS1에 비해서 재현성이 높음을 알 수 있다. 또한 **표 3**에 다시 계산된 값들과 비교하여도 PS1의 경우에 비해서 차이가 작음을 알 수 있다. 그러나 **그림 3**의 분자량 분포곡선을 보면 B와 D는 A와 C의 결과에 비해서 상당히 큰 분자량 분포를 보임을 알 수 있다. 역시 단정을 내리기는 어렵지만 D의 경우는 높은 주입 시료의 농도와 함께, 칼럼을 한 개만 사용한 것이 다른 실험실과의 차이점이다. 앞에서 언급한 바와 같이 GPC 분해능은 칼럼의 수가 많아질수록 올라가며 (물론 분석시간과 사용 용매량이 늘어나는 것을 감수하여야 한다.) 이렇게 분자량 분포가 좁은 시료의 분포를 정확하게 측정하자면 보다 높은 분해능을 가지도록 복수의 칼럼을 사용하는 것이 바람직할 것이다. B는 다른 연구실에 비해서 주입한 시료의 부피가 큰 것이 눈에 띄나, 이것이 큰 문제를 야기하지는 않았을 것으로 예측된다. 다른 연구실의 결과에 비해서 유독 큰 분자량 분포를 보이는 것을 보면 칼럼의 상태가 좋지 않아 떠 넓어짐 현상이 나타났을 가능성이 있어 보인다. 칼럼을 오래 사용하면 충전 입자가 깨어지고, 높은 압력에 밀려 칼럼 입구 쪽에 빈 공간이 생기게 되는데 이는 떠 넓어짐의 주 원인이 된다.

3.2 반복성

이러한 round robin test를 계기로 GPC 분석을 하는 연구실에서는 보유하고 있는 장비들의 운영에 대한 반복성을 점검하여 볼 수 있다. 복수 실험 결과의 자료를 보내온 B, C, D 연구실의 결과를 보면

앞서 검토한 연구실간의 재현성에 비해서 반복성이 월등히 나은 것을 알 수 있다. 재현성의 경우와 같이 분자량 분포가 좁은 PS2가 분포가 넓은 PS1보다 우수한 반복성을 보인다. 참고로 **그림 6**은 C 실험실에서 서로 다른 시점에서 얻은 실험결과를 보여주는 분자량 분포 곡선이다. 그림에 보인 크로마토그램은 거의 같은 모양을 보이고 있으나 계산된 평균 분자량은 **표 2**에서 보다시피 크기는 5% 이상의 차이를 보인다. 결국 평균 분자량을 계산하는데 있어 크로마토그램의 약간의 차이가 계산값에 어느 정도의 차이를 줄 수 있는가를 보여주는 좋은 예라고 할 수 있겠다.

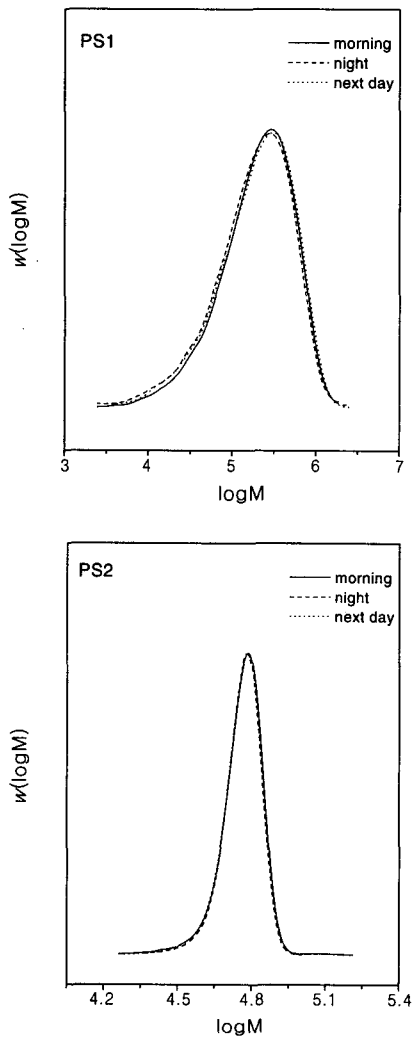


그림 6. 다른 시간대에 얻은 PS1과 PS2 시료의 분자량 분포 곡선.

측정의 반복성이 우수하다는 것은, 사용한 장비의 상태가 좋은가, 올바르게 보정되어 있는가를 알려주지는 못하더라도, 적어도 그 장비를 사용하고, 데이터를 처리하는 측면에서 일관성이 있음을 알려주고 있다. 한 연구실의 분석 결과가 다른 실험실들의 결과와 상이하다고 하더라도, 스스로의 결과들이 좋은 반복성을 유지하는 경우라면 문제의 원인을 찾아 결과를 보정하는 것은 어려운 일이 아닐 수 있다. 그러나 같은 조건에서 얻은 결과들이 불규칙적인 오차를 보인다면 보유하고 있는 장비의 사용과 결과해석 방법에 대해 가능한 문제점을 조사하여 보아야 한다. 본 연구의 결과로는 B, C, D 연구실 모두 반복성에 있어서는 그런대로 만족스러운 수준이라 할 만하다고 판단된다.

4. 결 론

고분자의 분자량 측정과 분포 분석에서 GPC는 간단하면서도 효율적인 분석 방법이다. 그러나 이렇게 쉽게 쓰일 수 있는 분석법이기 때문에 잘못된 실험에서 오는 결과를 쉽게 믿게 될 위험성은 더 크다고 말할 수 있다. 이러한 round robin test를 통하여 참여한 연구실은 스스로의 분석결과를 다른 연구실의 분석결과와 비교 검토하여 과연 기기의 운영이 제대로 이루어져 왔는가에 대해 확인할 수 있으며, 이 결과를 토대로 GPC 분석 조건을 개선할 수 있는 계기가 될 수 있을 것이다. 이번 연구는 첫번째 시도로 홍보가 부족하여 참여 연구실이 네 군데에 불과하였다. 따라서 시료의 정밀한 분석결과를 도출하거나, 최적의 분석 조건 등을 제시하는데에는 미흡하였으며, 단지 round robin test로 얻을 수 있는 수확 내지는 파악할 수 있는 문제점 등의 가능성을 제시하는데 의의를 둘 수 있을 것으로 생각한다. 이번 test를 시작으로 앞으로 더 많은 실험실이 참여한 가운데 주기적으로 이와 같은 test를 계속 진행할 예정이다. 이를 통하여 연구실간에 장비 운용 현황을 파악하고 유용한 정보를 교환하여 더 좋은 GPC분석 체계를 마련하는 데에 기여할 수 있을 것이다.

두 번째 round robin test는 역시 폴리스타이렌에 대해서 더 많은 GPC 사용자의 참여 하에 한번 더 시도할 예정이며 참여할 의사가 있는 연구실은 다음 주소로 참여 의사를 밝혀주시면 된다. 또한

이러한 test를 위하여 시료를 제공하여 줄 의사가 있는 곳도 연락하여 주시기 바란다. 그리고 앞으로는 상대적으로 손쉬운 폴리스타이렌과 같은 시료에 대해 충분히 만족스러운 결과가 얻어진다면 폴리올레핀과 같은 결정성 고분자나, 곁가지를 가진 비선형 고분자와 같은 시료에 대해서 round robin test를 발전시켜 나가려고 한다.

알리는 말씀: 이 연구에 참여하여준 연구실과, 결과정리와 해석에 도움을 준 박수진, 조동현군에 감사드린다. 또한 이 연구는 기능성분자집합체 연구센터의 지원을 받았다. 올해 실시하려고 하는 2차 round robin test에 참여코자 하거나 폴리스타이렌 시료를 제공할 의사가 있는 연구실은 저자 (tc@postech.ac.kr, 054-279-2109)에게 연락주시기 바란다.

참 고 문 헌

1. S. Mori and H. G. Barth, "Size Exclusion Chromatography", Springer-Verlag, New York, 1999.
2. 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.
3. W. Lee, H. Lee, J. Cha, T. Chang, K. J. Hanley, and T. P. Lodge, *Macromolecules*, **33**, 5111 (2000).
4. S. T. Balke, "Characterization of Complex Polymers by Size Exclusion Chromatography and High Performance Liquid Chromatography", in "Modern Methods of Polymer Characterization", eds. by J. W. Mays and H. G. Barth, John Wiley & Sons, New York, 1991.
5. T. Chang, H. C. Lee, W. Lee, S. Park, and C. Ko, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2188 (1999).
6. H. Aida, T. Matsuo, S. Hashiya, and M. Urushisaki, *Kobunshi Ronbunshu*, **48**, 507 (1991).
7. DIN55672-1, "Gel permeation chromatography (GPC) - Part 1: Tetrahydrofuran (THF) as Elution Solvent", Deutsches Institut für Normung e.V. (DIN), Berlin, 1995.
8. K. Lederer and N. Aust, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, **A33**, 927 (1996).
9. S. Mori, *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **4**, 531 (1998).
10. E. Robert, J. Fichter, N. Godin, and Y. Boscher, *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **3**, 351 (1997).
11. L. D'Agnillo, J. B. P. Soares, and A. Penlidis, *J. Polym. Sci. Polym. Phys.*, **40**, 905 (2002).
12. R. J. Bruessau, *Macromol. Symp.*, **110**, 15 (1996).
13. J. Janca, *J. of Liq. Chromatogr.*, **4**, 181 (1981).
14. L. H. Tung, J. C. Moore, and G. W. Knight, *J. Appl. Polym. Phys.*, **10**, 1261 (1966).
15. L. H. Tung and J. C. Moore, "Gel Permeation Chromatography", in "Fractionation of Synthetic Polymers-Principles and Practices", ed. by L. H. Tung, Marcel Dekker, New York, 1977.