나노 ITC 설치/run manual

Nano ITC installation/run manual

Number MMK0001-1

Application specialist(2013-8-13)
2014-05-29; 32페이지 사진 update
2016-02-26; 32페이지 항목 7) 추가

목차

1. 설치(installation) …… 2
2. program run …… 3
   1) menu bar …… 4
      * file …… 4
      * experiment …… 4
      * buret …… 8
      * help …… 9
   2) toolbar …… 11
   3) real-time signal display …… 11
   4) tab …… 12
      - Setup …… 12
      - Monitor …… 16
      - data …… 16
      - system …… 17
      - diagnostic …… 19
3. sample loading …… 21
   1) degassing …… 21
   2) 주사기와 바늘 …… 22
   3) 시료/용액 filling 절차 …… 22
   4) 시료 주사기 …… 26
   5) 주사기를 buret에 장착 …… 28
   6) buret을 본체에 장착 …… 29
4. 실험 종료 후 세척 …… 30

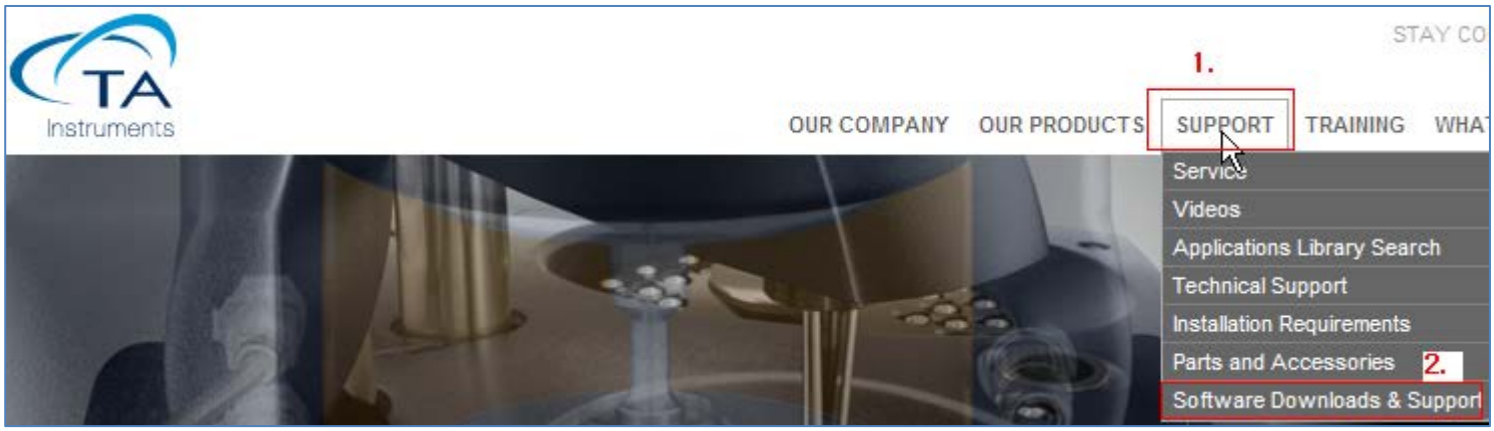
[부록 1.] Syringe calibration(9페이지)의 방법 …… 33
[부록 2.] 설치 때 nITC 본체와 PC가 연결이 안 된다는 에러가 뜨는 경우 …… 37

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

이 매뉴얼은 ITCRun ver. 2.2.3 기준이다. 실험 결과 분석은 MMK0002 참고.

1. 설치(installation)

1) TA Instruments 미국 홈페이지(http://www.tainstruments.com)의 'Support --> software downloads & support'에서 'Nano series download page'로 들어간다. 여기서 'Nano ITC Run Software'와 'NanoAnalyze Software'를 다운로드 받는다.[1] 다운로드에 시간이 좀 걸리므로 미리 해 놓는 편이 좋다.



▲ 그림 1. S/W download 경로

2) 상자에서 unpacking ; PC, module, degassing station

3) 모두 전기를 연결하고 스위치를 다 On. nITC module 쪽은 USB로 PC 본체와 연결



▲ 그림 2. nITC 뒷면. USB로 PC와 연결한다.

4) 0) 번에서 받은 S/W 두 개를 PC에 install해 준다.

이 절차가 다 끝나면, 다음 단계로 들어간다.

[1] 2013. 8 현재 url은 http://www.tainstruments.com/main.aspx?id=171&n=2&siteid=11이며, 최신 version은 ITCRun v2.2.3과 NanoAnalyze v2.4.1이다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

2. Program run

아래 icon을 click하여 프로그램을 띄운다. 물론 본체는 미리 켜 두고 연결해야 한다(온도 안정이 필요하기 때문에 적어도 사용 전날에는 on을 권장).



◀ 그림 3. Program icon

화면에 아래 그림이 잠깐 보이고 금방 프로그램이 뜬다.[2]

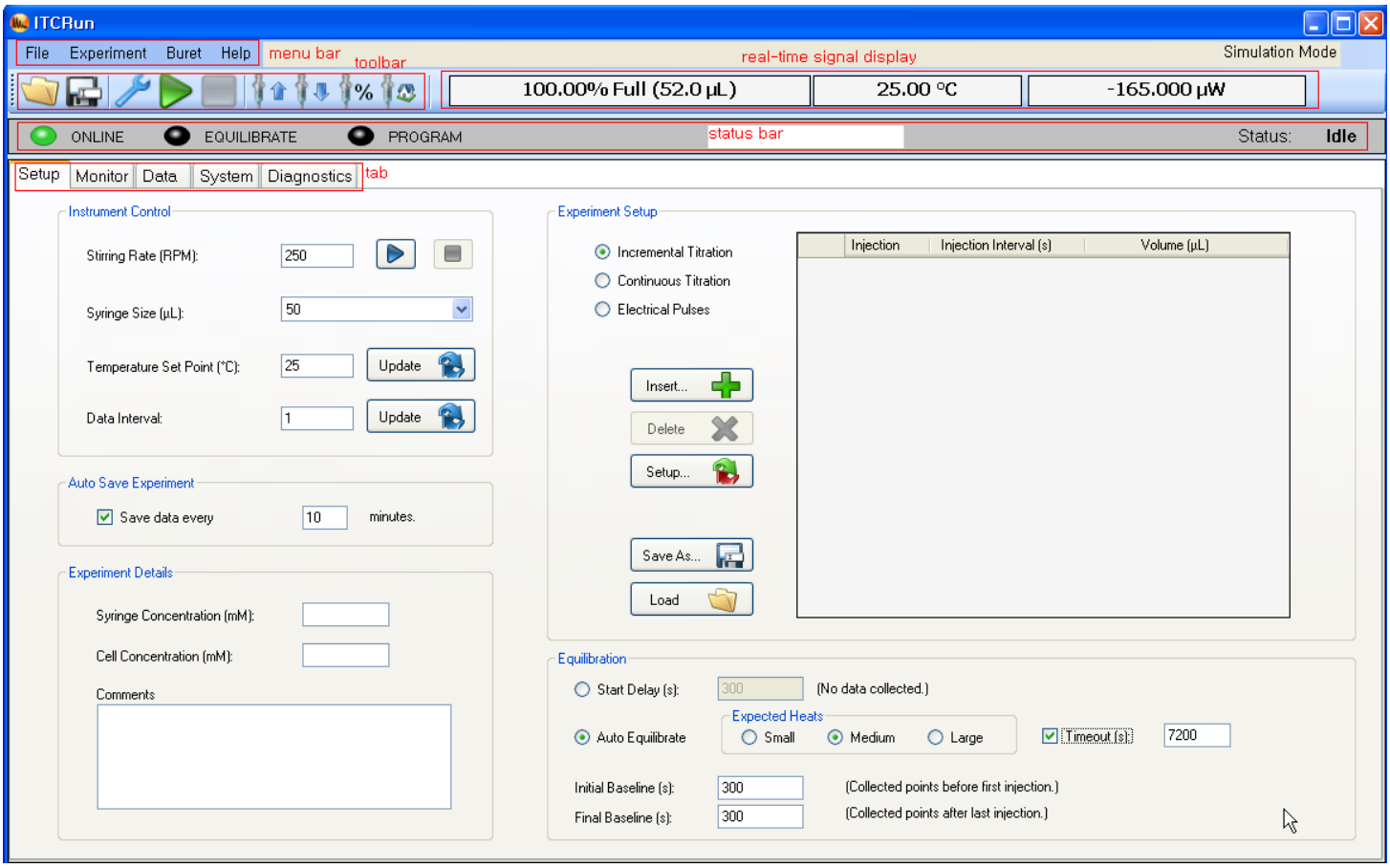


▲ 그림 4. 보이고 바로 지나가는 화면

전체 화면은 다음 그림 5와 같다.

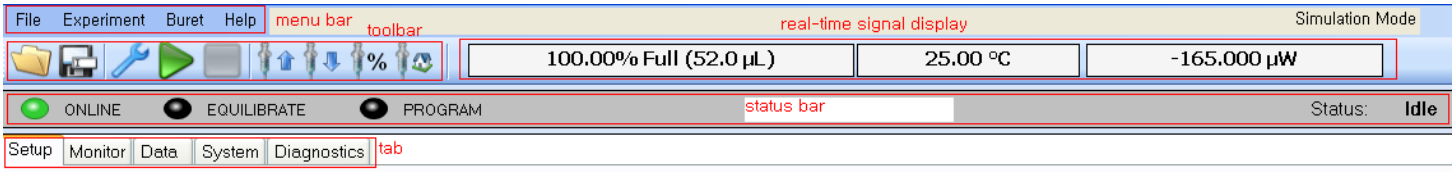
[2] '13. 8. 현재 프로그램을 띄웠을 때 PC와 nITC module의 연결에 문제가 생기면(에러 메시지가 뜬다), 33페이지 부록의 문제 해결 방법을 따르면 된다. PC와 module의 Rebooting을 한 번만 해서는 안 될 경우가 있으니 그 때는 반복해 본다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

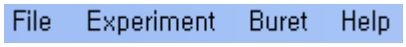


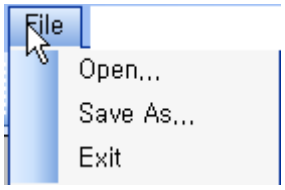
▲ 그림 5. 초기 화면 ; 기본인 'setup' tab

여기서 화면 위의 bar들은 아래 그림 6이다.

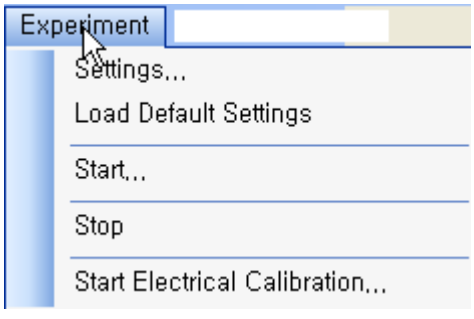


▲ 그림 6. Program bar.

1) menu bar 



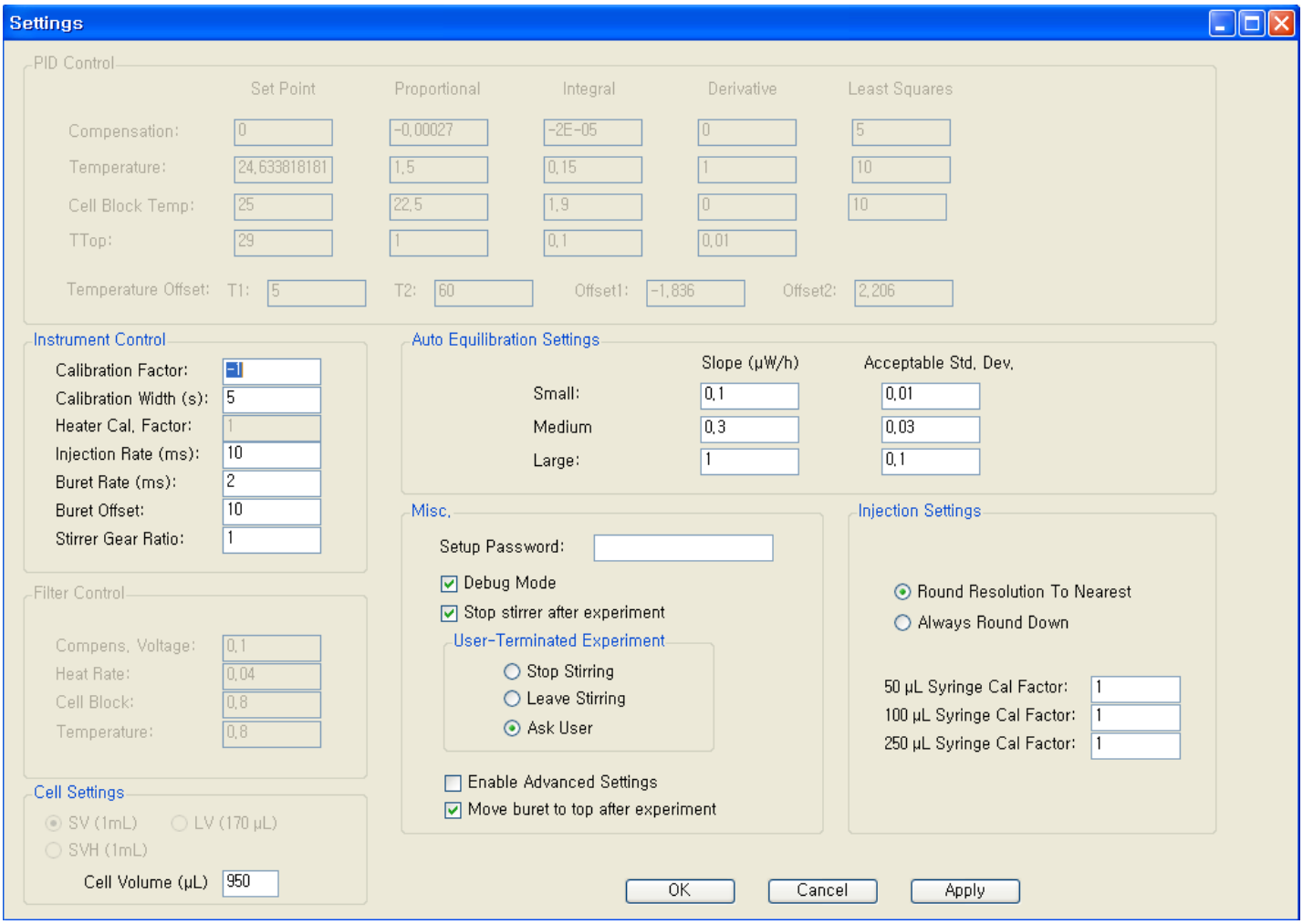
- File ; 'open' 과 'exit', 'save as'  메뉴. 보통 toolbar의 해당 icon 사용
- Experiment ; 'Settings' 가 중요하다.



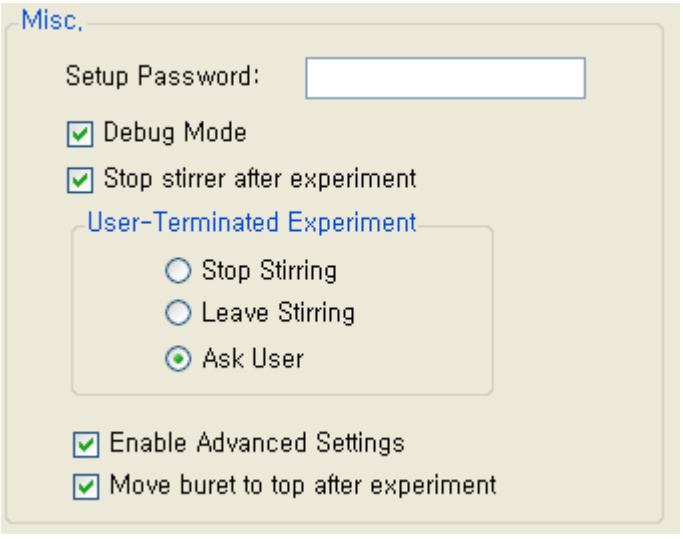
  - Settings  ; PID 설정, power, cell volume, setup menu 및 평형 조건(equilibrium condition)등을 수정 가능하다. 그림 7 참고.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

▼ 그림 7. Settings 화면.



초보 사용자들이 건드릴 수 있는 메뉴들은 아래와 같다(오른쪽 그림).



setup password ; 아무나 편집하지 못하도록 비밀번호 입력. Default는 'tananoitc'다.

debug mode ; 이것을 선택해야 그림 5,6의 tab에서 'system'과 'diagnostic'을 볼 수 있다.

stop stirrer after experiment ; 실험 뒤에 stirrer를 세우는 option

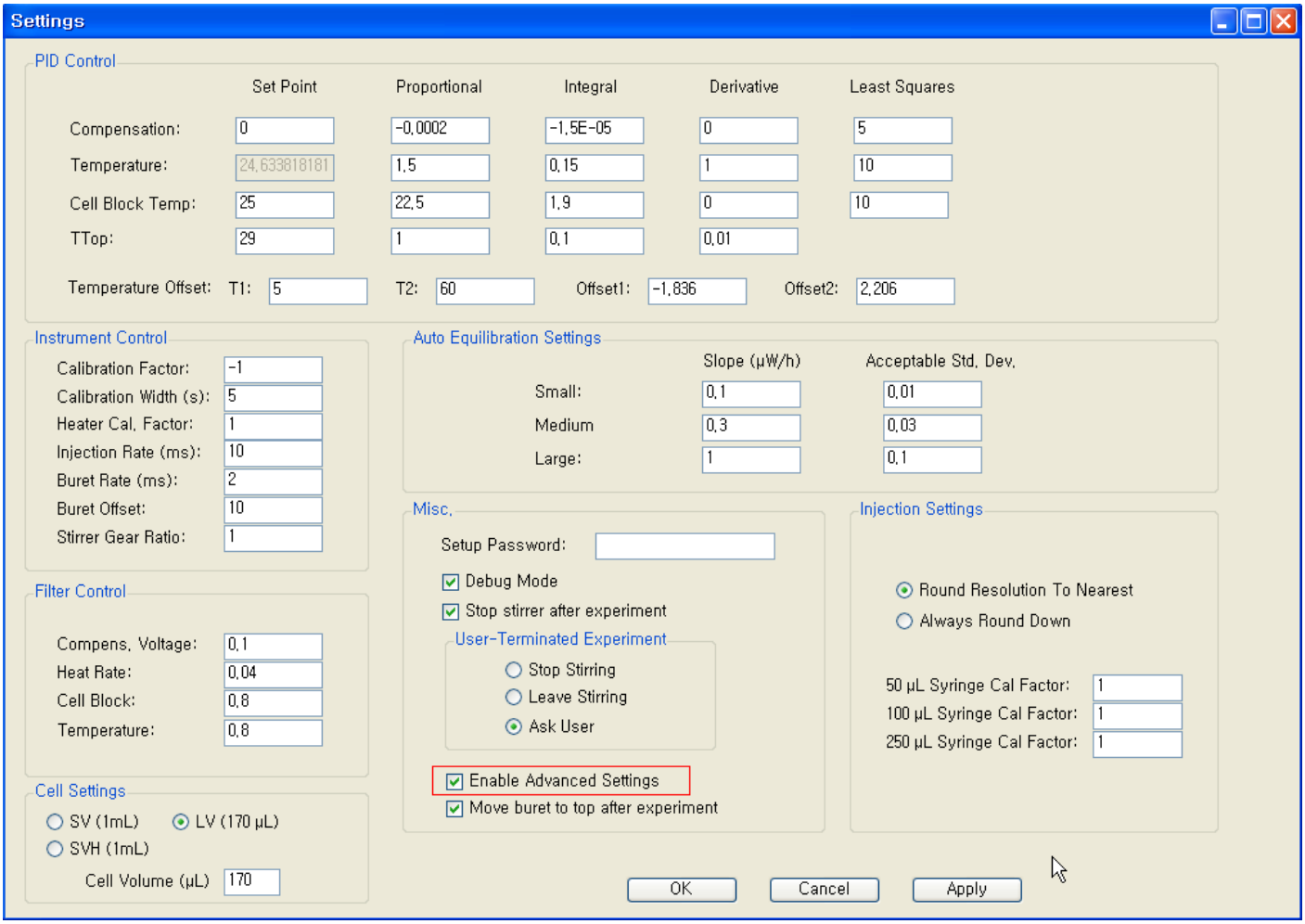
move buret to top after experiment ; injection buret이 실험하면서 아래 쪽으로 전진하기 때문에, 실험 종료 후 빼낼 때 방해가 되거나 장비에 손상을 입힐 수 있다. 이 문제를 막기 위해 이 메뉴는 항상 선택해 놓도록 한다.

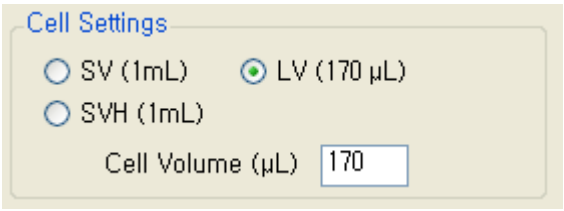
Enable Advanced Settings ; check할 경우, 다음 페이지 그림 7-1처럼 바뀐다. 그림 7과 비교하면, 비활성화라 건드릴 수 없던 많은 메뉴들을 손댈 수 있게 된다. **당연히 '위험하니'**

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

주의해야 한다. 여기 선불리 손대지 않도록 한다.

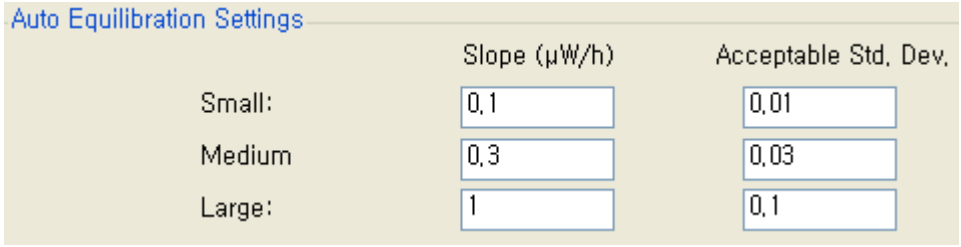
▼ 그림 7-1. Settings 화면; Enable Advanced settings를 선택하고 password를 넣으면 이렇게 바뀐다.





여기서는 구매한 장비에 장착되어 있는 cell을 기준으로 선택한다.

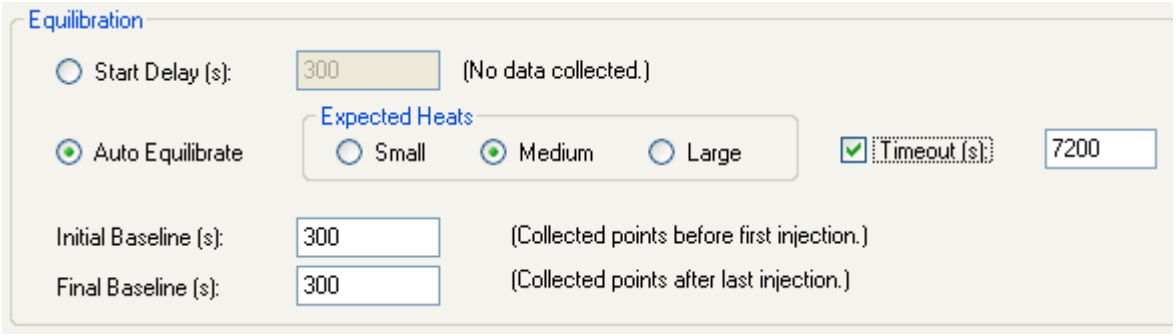
1ml standard volume은 950, 190㎕ low volume은 170을 입력해야 한다. (보통 setup 때 제대로 들어가 있기 때문에 건드릴 일 없으며, password 입력 안하면 건드릴 수도 없음)



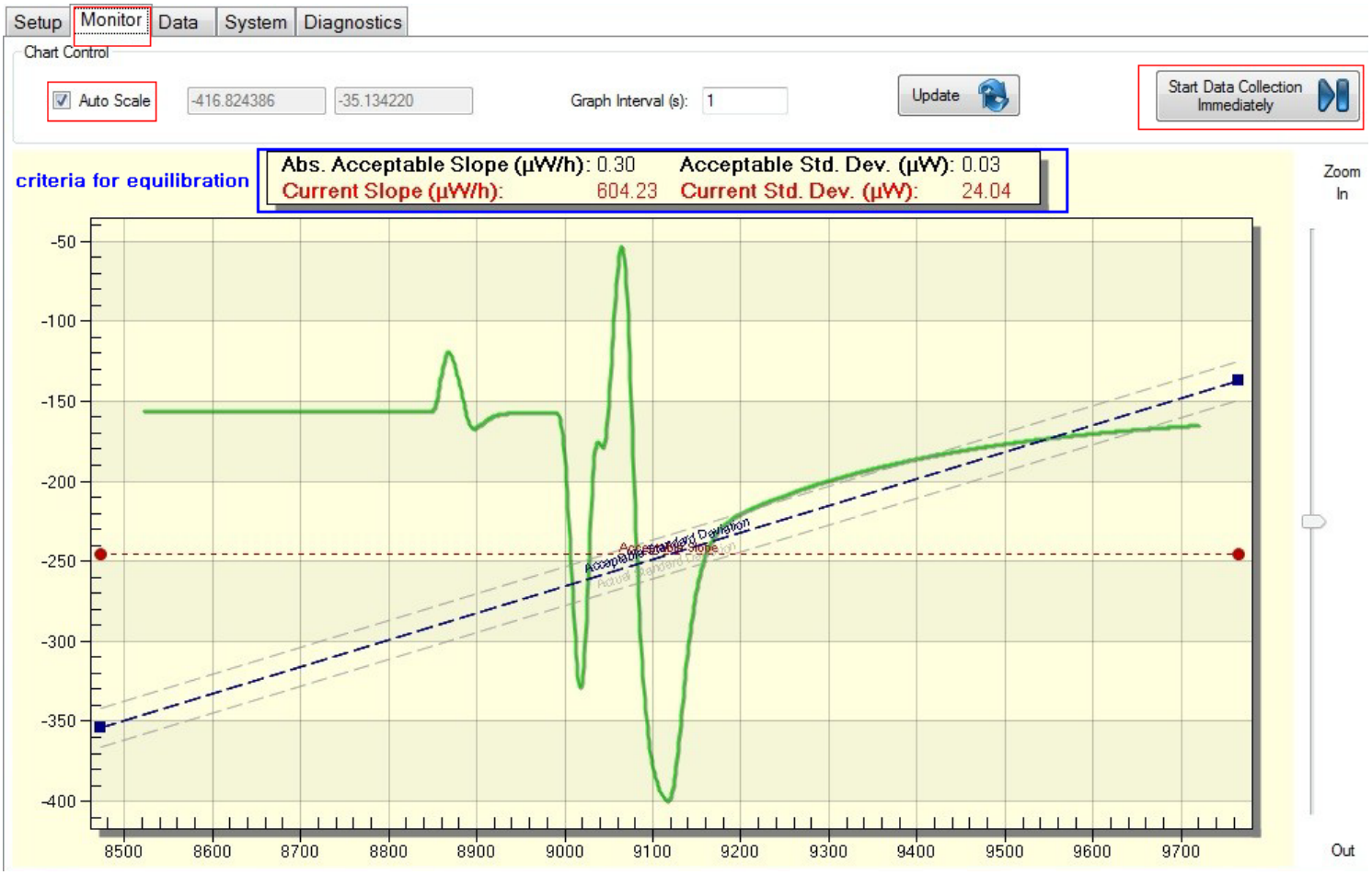
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

; auto equilibration settings ; 첫 injection을 하기 전 baseline이 충분히 안정되어 있는가를 판정하는 기준을 준다. 위에서 small, medium, large로 구분해 놓은 것은 적정 때 나오는 열량이 '작은 수준, 중간 수준, 큰 수준'에 맞추면 된다. 물론 실험 때 출입 열량이 크면 다소 baseline이 휘어져도 상관 없지만, 작으면 더 엄격해야 한다. 위에서 보듯이, small이 slope와 acceptable std. dev.(즉 'tolerance') 값이 가장 작고(엄격하고) large가 가장 크다.

이 기준을 보는 방법은, 우선 main 화면(그림 6의 'setup' tab)에서 화면 오른편 아래의 'auto equilibrate'를 선택한다. 여기서는 앞에서 말한 'small, med, large' 중 하나를 선택해야 한다. 아래의 'Timeout' 시간은, 이 기준을 만족하지 않더라도 여기 입력한 시간을 지나면 그냥 data collection(실제 method에서 정한 titration)으로 들어간다는 것이다.



선택을 이렇게 해 놓고, 그림 6의 'monitor' tab으로 들어가고 어느 정도 시간이 경과하면 아래 그림 8처럼 된다.



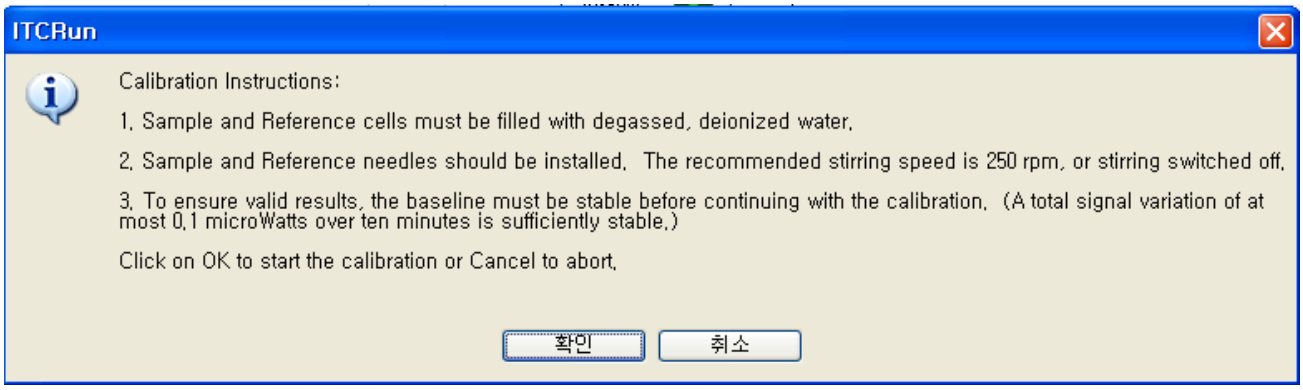
▲ 그림 8. Autoequilibration setting 때 monitor tab의 화면

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

위 그림에서 보듯이, 최근 10분 간의 baseline을 기준으로 하여, 'settings'에서 입력해 놓은 값과 얼마나 차이가 나는가를 확인한다. 위에서 파란 네모로 표시한 곳에서 'auto equilibration settings'에서 선택해 놓은 값과 현재 값을 비교다. 어느 정도 안정이 되면 위 그림 왼편 Y scale에서 보듯이 요동이 상당히 작기 때문에 그림 위 왼편에서 autoscale checkbox를 선택하면 아예 보이지 않는다. 가운데 파란 네모로 표시한 곳에서, 기울기(slope)와 std. dev.(표준편차) 중 만족한 것은 글씨 색이 녹색으로 되고, 둘 다 만족하면 실제 다음 '실험 단계'로 넘어간다.

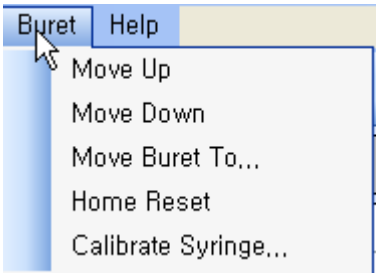
일단 둘 다 만족하거나 그렇지 않더라도 timeout 시간을 지나면, 실험이 시작된다. 너무 지루하거나 만족할 가망이 없으면, 오른편 위의 'start Data collection immediately' 버튼을 눌러 실험 쪽을 진행시키면 된다.

- Load default settings; 혹시 제대로 된 setting값을 잊어버렸을 때 장비 초기 설정값을 불러오는 기능. ~~그러니 위에 소개한 메뉴 외에 다른 거 건드리지 마시길.~~
- Start, stop ; 실험 개시 /정지 .
- Start electrical calibration ; 문제가 생기기 전에는 건드릴 일 없을 것이다. 들어가면 아래 메뉴가 뜬다. **Service의 자문을 받기 전에는 시행하지 않도록 한다.**



▲ 그림 9. Electrical calibration ; 절차

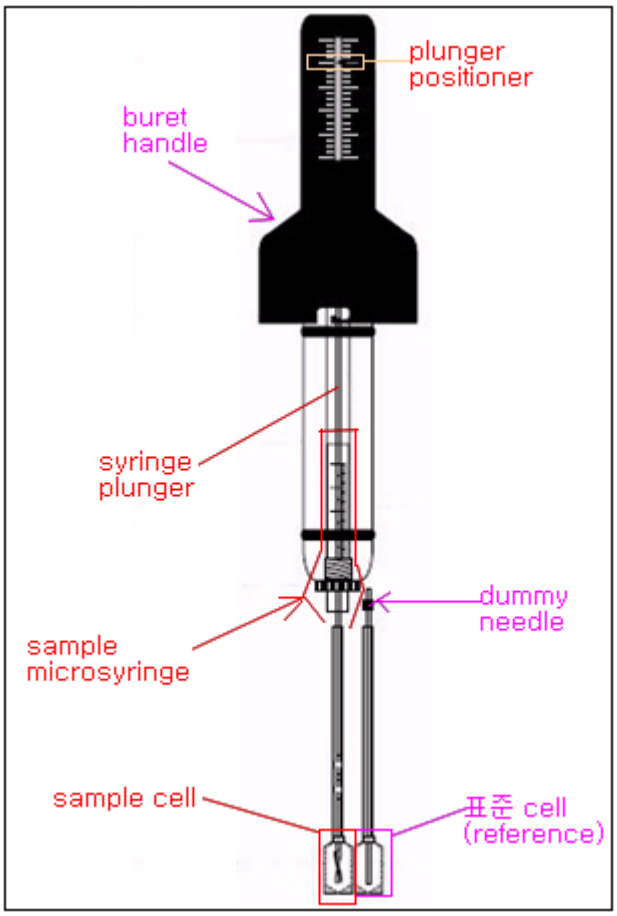
- Buret ; sample을 sample cell에 주사하는, 주사기를 가동하는 부분. 오른편에 보면 'move up', 'move down', 'move buret to...', 'home reset', 'calibrate syringe...' 가 있다.



-  move up ; 아래 그림에 보이는, 주사기 piston(plunger)을 위쪽으로 올린다.
-  move down ; plunger를 아래쪽으로 이동시킴
-  move buret to... ; piston이 움직일 수 있는 범위의 특정 % 위치로 이동시킴. 가령 50 microliter syringe에서 50%로 정해 주면, 25microliter 위치로 간다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

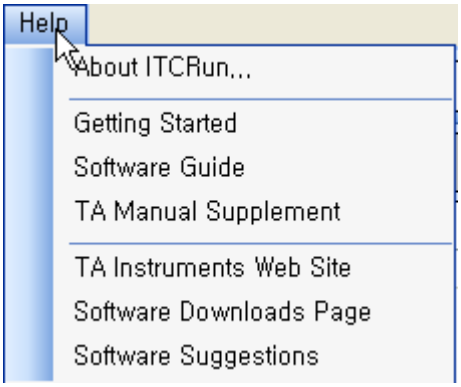
-  Home reset ; piston의 home position을 다시 정해 준다.
- Calibrate syringe ... ; 사용하는 syringe를 보정하는 방법. 자세한 설명은 맨 뒤 부록에 첨부하겠다(33페이지).





▲ 그림 10. Buret assembly 및 장착했을 때의 사진. 오른편 사진에 표시해 놓은 부분을 잘 보면, 사진에서는 보이지 않지만 하얀 positioner가 있다. 적정이 진행되며 이 positioner가 점점 아래로 내려온다.

- Help ; 참고 사항들 및 (영어) 매뉴얼
  - About ITCRun... ; version 정보. 2013.8.9 현재 최근 version은 2.2.3이다.
  - Getting Started ; 'NanoITCGettingStarted.pdf' file이 뜬다. 여기에 기본적인 사용법은 다 들어 있으며 충분히 일반적 안내로 쓸 수 있다. (아래 그림 11)



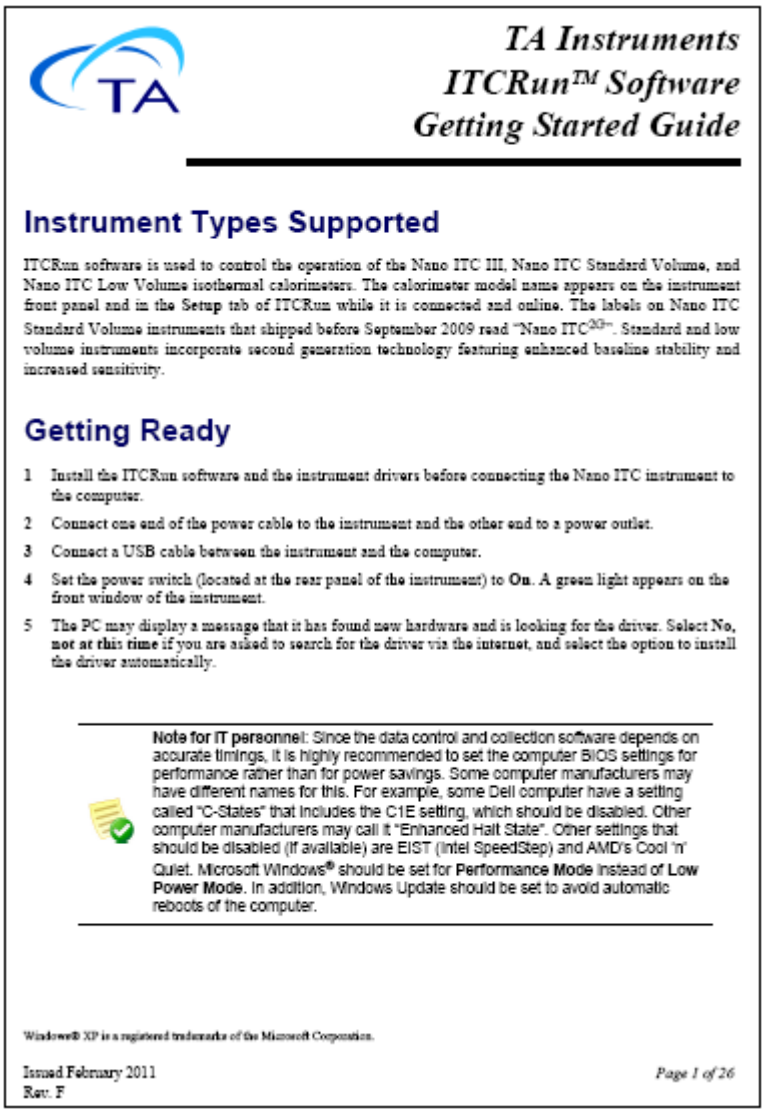
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 11. NanoITCGettingStarted.pdf file의 초기 화면

- Software guide ; 'ITC Software Getting Started Guide.pdf' file이 뜬다. (다음 페이지 그림 12) 이것은 좀 더 자세한 안내를 제공하며, 일반 사용자가 몰라도 거의 상관 없을 내용까지도 알 수 있다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



TA Instruments
ITCRun™ Software
Getting Started Guide

Instrument Types Supported

ITCRun software is used to control the operation of the Nano ITC III, Nano ITC Standard Volume, and Nano ITC Low Volume isothermal calorimeters. The calorimeter model name appears on the instrument front panel and in the Setup tab of ITCRun while it is connected and online. The labels on Nano ITC Standard Volume instruments that shipped before September 2009 read "Nano ITC^{2G}". Standard and low volume instruments incorporate second generation technology featuring enhanced baseline stability and increased sensitivity.

Getting Ready

1 Install the ITCRun software and the instrument drivers before connecting the Nano ITC instrument to the computer.

2 Connect one end of the power cable to the instrument and the other end to a power outlet.

3 Connect a USB cable between the instrument and the computer.

4 Set the power switch (located at the rear panel of the instrument) to **On**. A green light appears on the front window of the instrument.

5 The PC may display a message that it has found new hardware and is looking for the driver. Select **No, not at this time** if you are asked to search for the driver via the internet, and select the option to install the driver automatically.

Note for IT personnel: Since the data control and collection software depends on accurate timings, it is highly recommended to set the computer BIOS settings for performance rather than for power savings. Some computer manufacturers may have different names for this. For example, some Dell computer have a setting called "C-States" that includes the C1E setting, which should be disabled. Other computer manufacturers may call it "Enhanced Halt State". Other settings that should be disabled (if available) are EIST (Intel SpeedStep) and AMD's Cool 'n' Quiet. Microsoft Windows® should be set for **Performance Mode** instead of **Low Power Mode**. In addition, Windows Update should be set to avoid automatic reboots of the computer.

Windows® XP is a registered trademarks of the Microsoft Corporation.

Issued February 2011
Rev. F

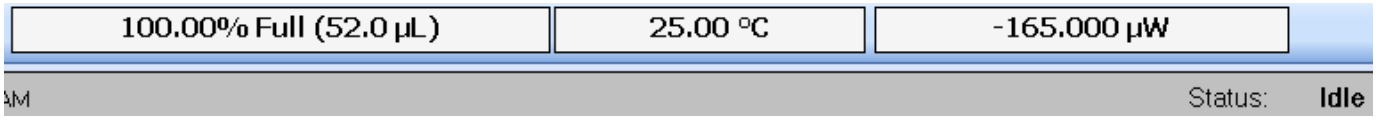
Page 1 of 26

▲ 그림 12. ITC Software Getting Started Guide.pdf file의 초기 화면

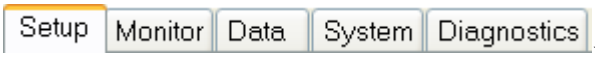
- TA Instruments website ; http://www.tainstruments.com로 바로 연결(operation PC가 인터넷에 연결되어 있다면)
- Software download page ; http://www.tainstruments.com의 하부 페이지인 http://www.tainstruments.com/main.aspx?id=171&n=2&siteid=11에 S/W 최근 version이 항상 올라와 있다. Download받아야 할 것은 'ITCRun'과 'NanoAnalyze'다.

2) toolbar  ; 위에서 의미 및 menu bar에서 들어가는 법을 다 설명했음

3) real-time signal display ; 왼편부터 buret position, 실제 온도, heat flow



© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

4) tab ; 

의 다섯 메뉴가 있다.

- Setup ; 실험 설정의 대부분을 여기서 수행한다. 전체 화면은 4페이지 그림 5에 있으니 거기를 참고하고, 부분 부분의 기능을 설명하겠다.

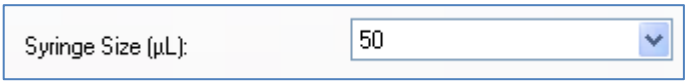


장비의 상태. PC의 Program이 켜진 장비에 연결되어 있는가(online), 6~7페이지에서 설명한 'equlibrate' 상태인가, 평형이 다 끝나고 실험을 짠 대로 돌아가고 있는가(program)

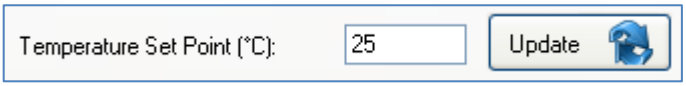
<1> 'instrument control' 부분



Stirring rate(rpm)는 150~400 범위에서 조절 가능. 보통 250~350을 많이 사용한다. 오른편의 화살표를 누르면 '웅~~' 하고 돌아가는 소리가 들릴 것이다.



9페이지 그림 10에서 sample을 넣는 microsyringe의 size 선택. Standard volume에서는 100 or 250㎕, low volume에서는 50㎕.

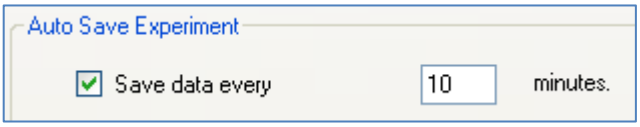


실험할 온도를 입력하고 update button을 누르면 된다.



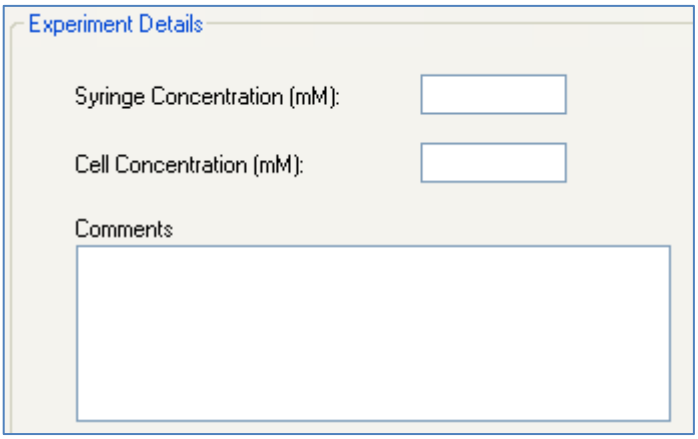
Default는 1초당 point 하나씩 저장.

<2> 'auto save experiment' 부분; 숫자 넣은 시간마다 결과 file 전체를 자동저장. Default는 10분.



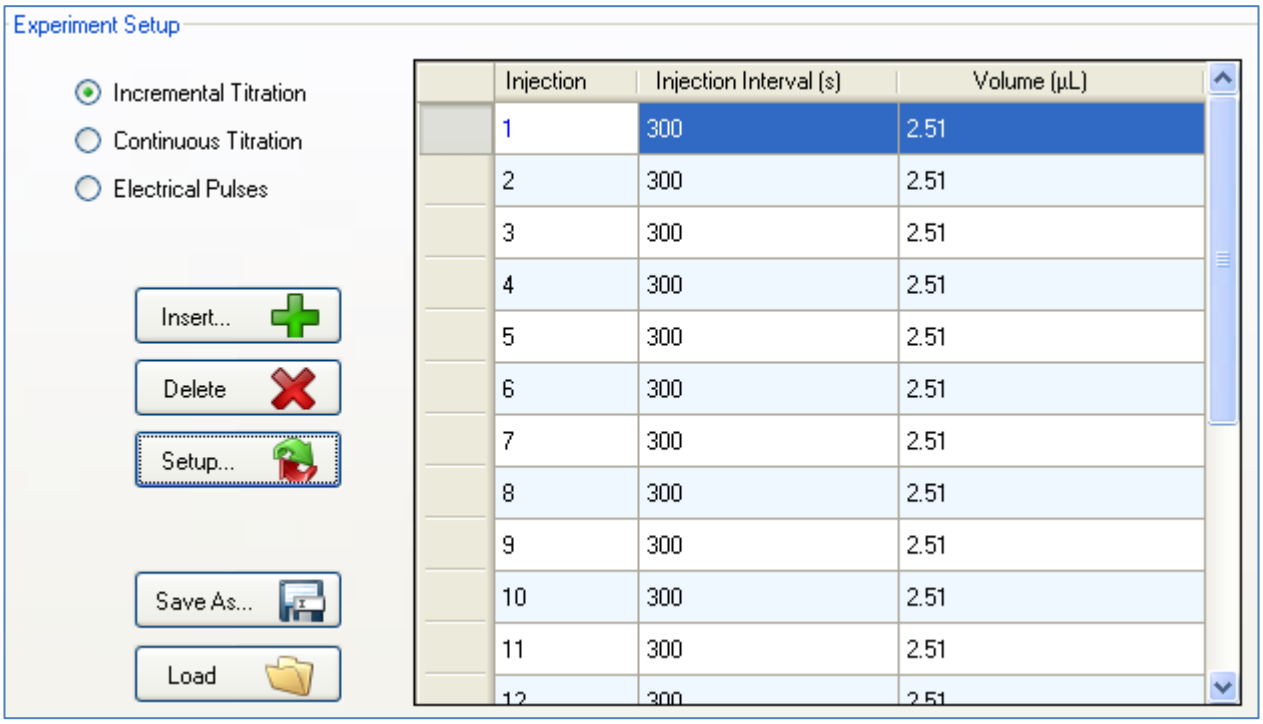
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

<3> 'Experimental detail' 부분; 이 항목은 주사기에 넣는 titrant(syringe concentration)과 sample cell에 넣는 용액의 농도를 입력해 준다. 옆의 comments에는 양편 용액 종류라든지 기록해 놓기를 원하는 정보를 입력한다. 여기 입력한 값이 NanoAnalyze에서 결과를 해석할 때 나타난다.



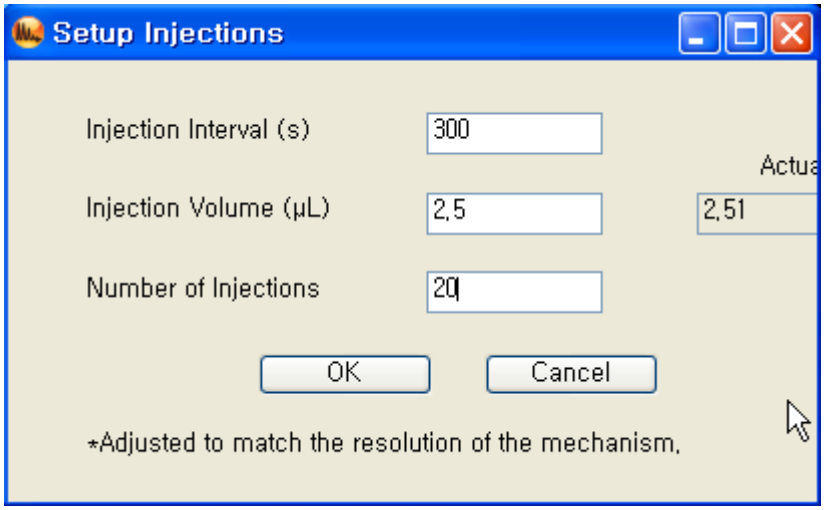
<4> 'Experimental setup' 부분

'experiment type'은 실험 설정으로, 보통 '방울방울 투입'은 incremental을, 한 번에 쭉~ 집어넣는 방식은 continuous를 선택하면 된다. Electrical pulse는 문제가 나기 전에는 쓸 일 없으니 무시하면 된다.

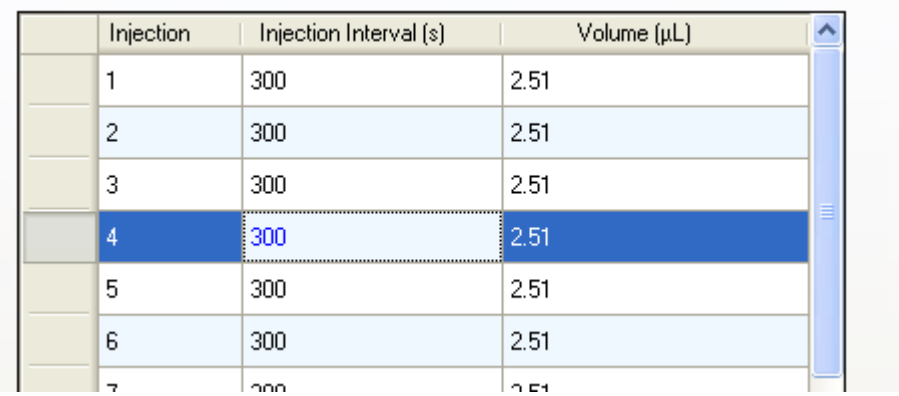


위 그림은 '방울방울 적정'('incremental titration'을 선택했을 때)에서 개별 injection 사이의 시간 간격(injection interval), 방울마다 넣는 부피(volume), 몇 번 injection하는지를 지정해 준 모습이다. 'setup' 버튼을 누르면 위처럼 전체를 다 수정할 수 있다.

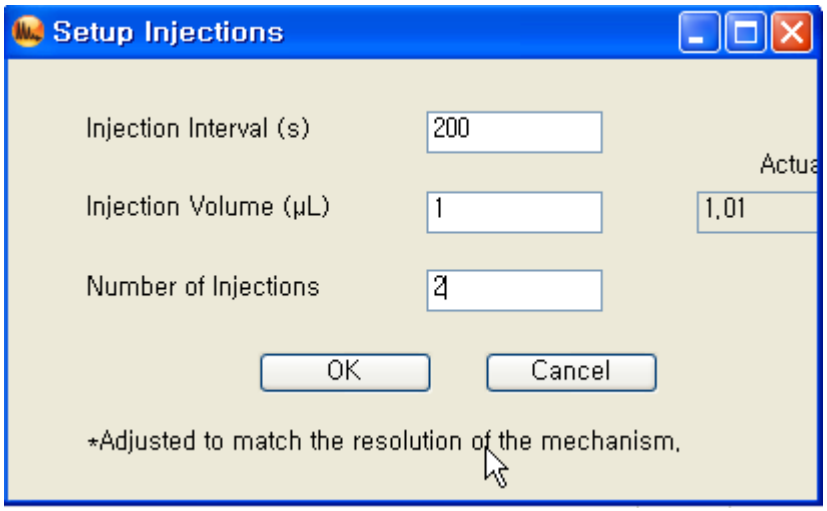
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



위에서 injection volume과 오른편의 Actual이 차이가 나는 이유는, 9페이지에서 말한 syringe calibration factor 및 metering pump의 작동 방식 때문이다.

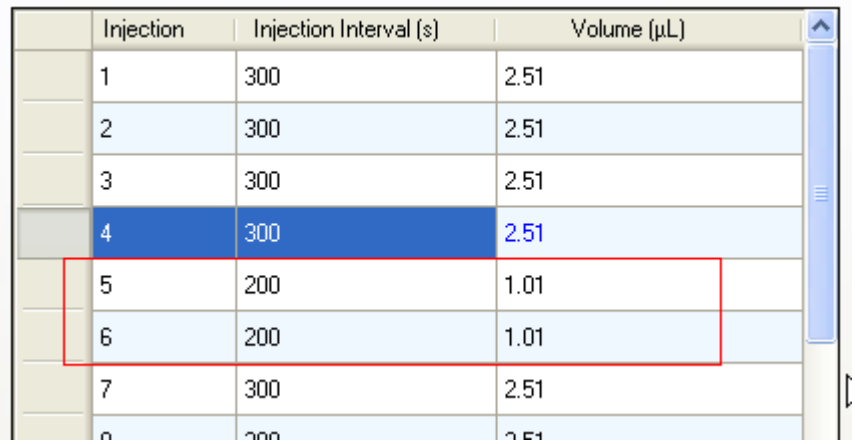


위 그림은 injections의 4번을 마우스로 클릭한 상태다. 여기서 오른편의 insert button을 누르면



이런 화면이 나타난다. OK button을 누르면

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



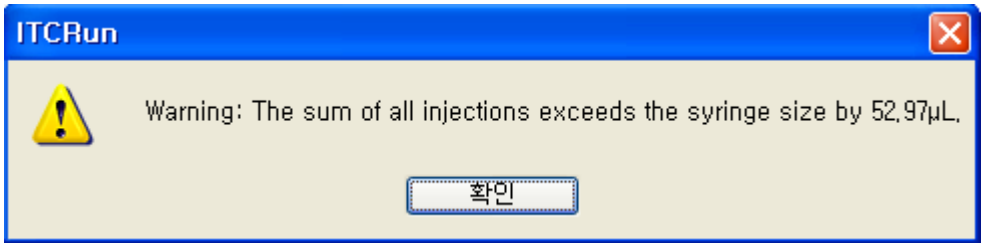
	Injection	Injection Interval (s)	Volume (µL)
	1	300	2.51
	2	300	2.51
	3	300	2.51
	4	300	2.51
	5	200	1.01
	6	200	1.01
	7	300	2.51

위 그림처럼, 클릭했던 4번 자리 다음에 2 개가 삽입으로 들어갔다.

'Insert'가 아니라 'Edit'을 누르면, 삽입이 아니라 해당 injection의 수치를 수정할 수 있다. 'Delete'는 해당 injection을 삭제한다(자판의 delete button을 써도 된다).

14 페이지에서 말했듯이, 'Setup' button은 전체를 다 고친다. 기존에 넣은 값이 있는 상태에서 이 버튼을 누르면 앞 페이지 첫 subwindow 화면이 뜨면서 기존 table 다 지워져 버리니 주의하기 바란다.

만약 주사기의 sample 부피보다 이 메뉴에서 지정한 injection volume 총 값이 더 크다면 이런 경고가 뜬다.



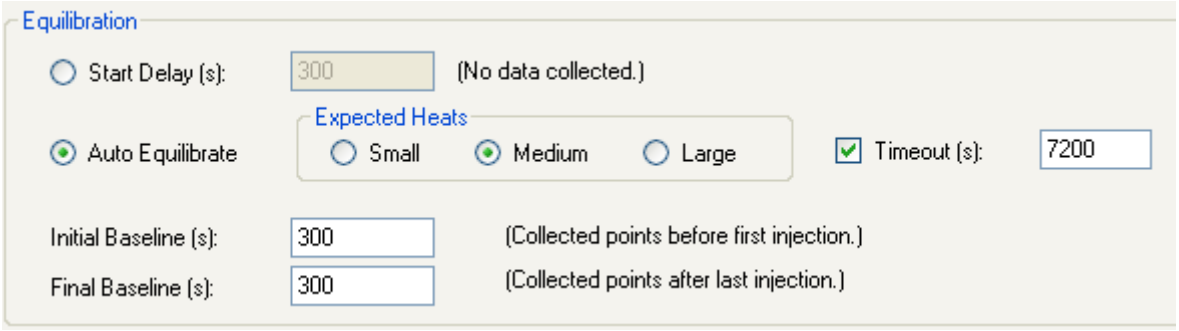
이 경우 물론 주사기 부피가 되는 데까지만 run을 하겠지만, 일단 setup 자체는 입력한 대로 수정해 준다. 가령 주사기 100㎕ 짜리인데 injection을 20㎕ 10번으로 설정할 수도 있다. 물론 위 경고가 보이겠지만 화면은 '시킨 대로' 바뀌긴 한다.

더 아래의 **Save와 Load button은, 앞 페이지의 injection 관계 setting 뿐 아니라 'Setup' tab 전체의 내용을 file로 저장하거나 불러온다**는 것을 유념하자.

주의] 실제 적정 조건을 정하기는 그리 쉽지 않다. **MMK0005를 참고**하기 바란다.

<5> 'Equilibration' 부분

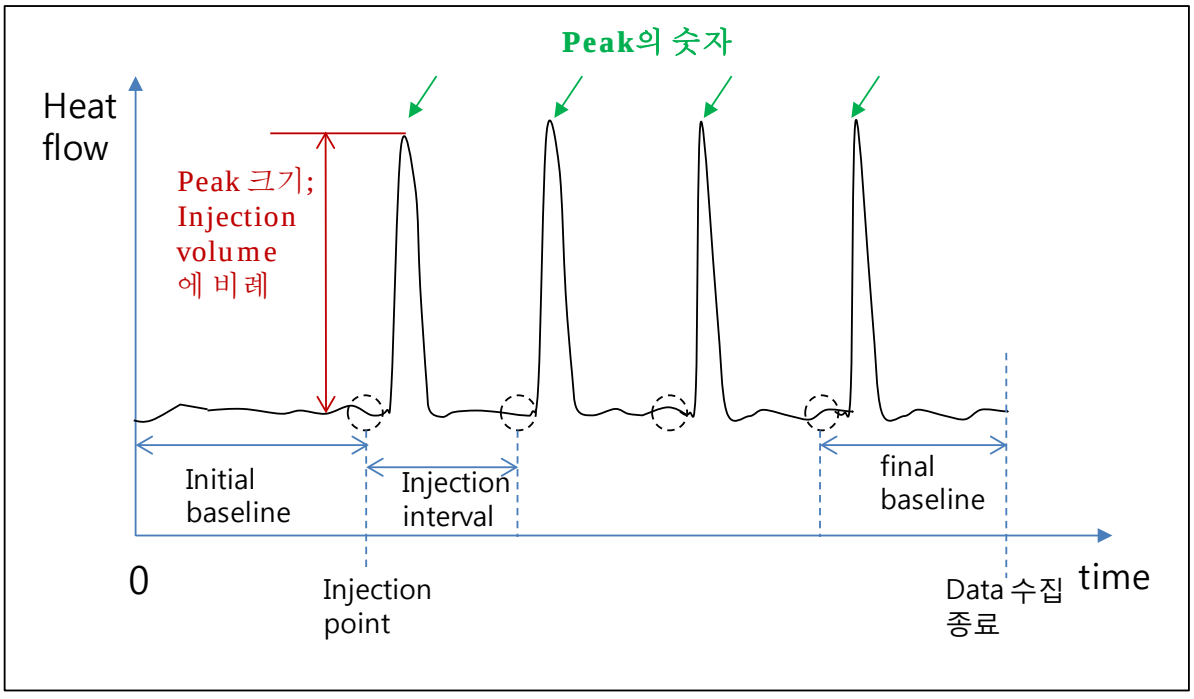
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



이 부분은 titration을 시작하기 전 평형 조건에 관한 내용이다.

Start delay는 옆의 설명처럼 data로 기록하지 않으면서 입력한 시간만큼 기다리도록 한다. Auto equilibrate는 settings  항에서 설명했으므로(6~8페이지) 여기서는 줄인다. Initial/final baseline은 data로 기록하면서 기다리는 baseline이다. 물론 initial은 실험 개시 전, final은 맨 마지막 injection이 끝난 후 기록 시간을 의미한다.

이러한 평형 관계 설정이 실제 data에서 어떻게 나타나는가는 아래 그림 13에서 볼 수 있다. 여기에 start delay 부분은 (data로 기록하지 않으므로) 나타날 수 없음을 유의하자.

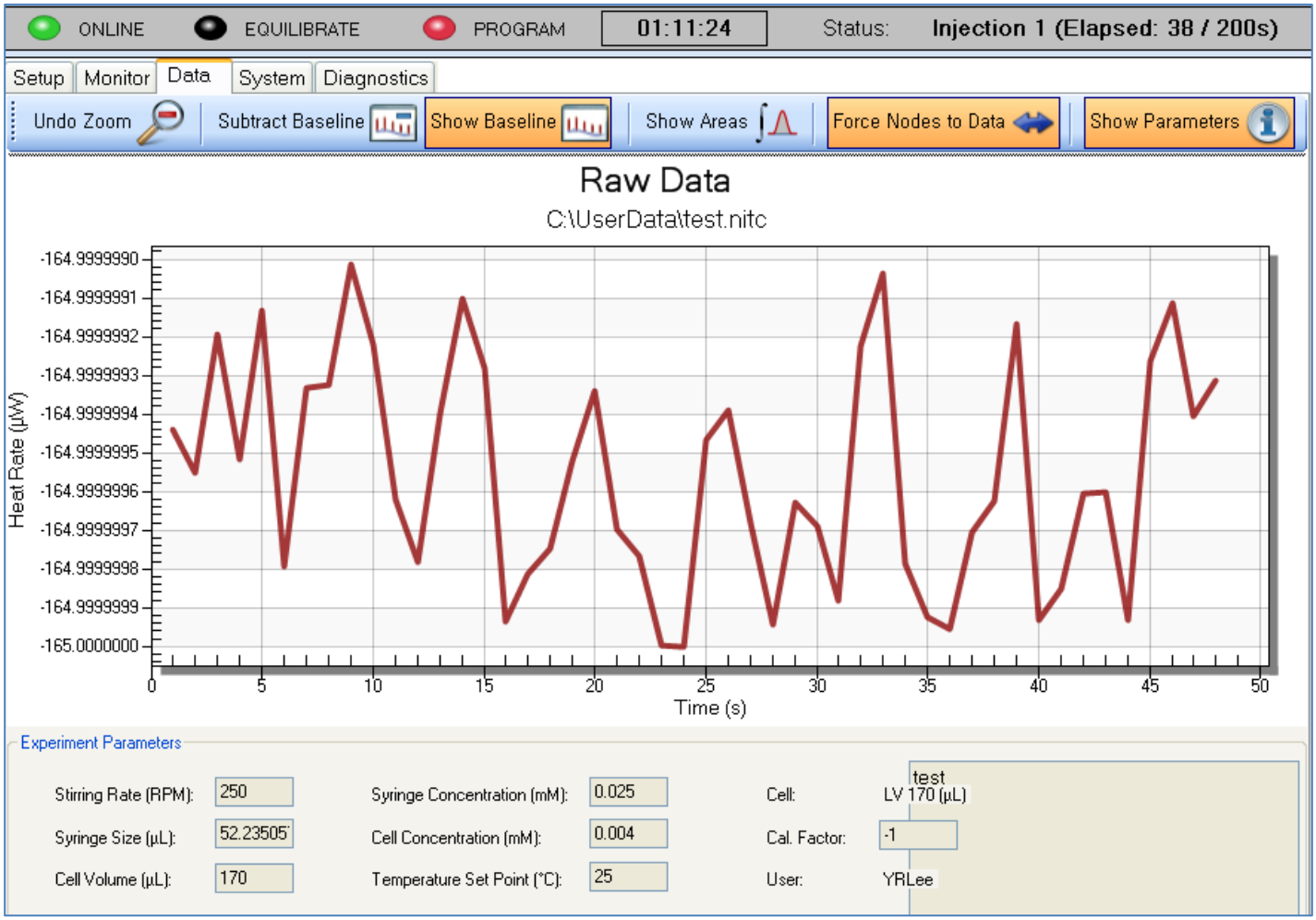


▲ 그림 13. 'Setup' tab에서 각 설정치와 적정 graph의 관계

- monitor ; 실험 전 평형과 관련하여 6~8페이지에서 설명했다.
- Data ; 실험 중 저장되고 있는 data를 보여 준다. 다음 페이지 그림 14. 화면 아래쪽에는 'experimental parameter'가 있는데, 실험 주요 parameter로 입력했던 수치들을

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

볼 수 있다. 아래 그림은 실험 진행 중의 모습이다(simulation mode기 때문에 peak는 나오지 않는 모습).

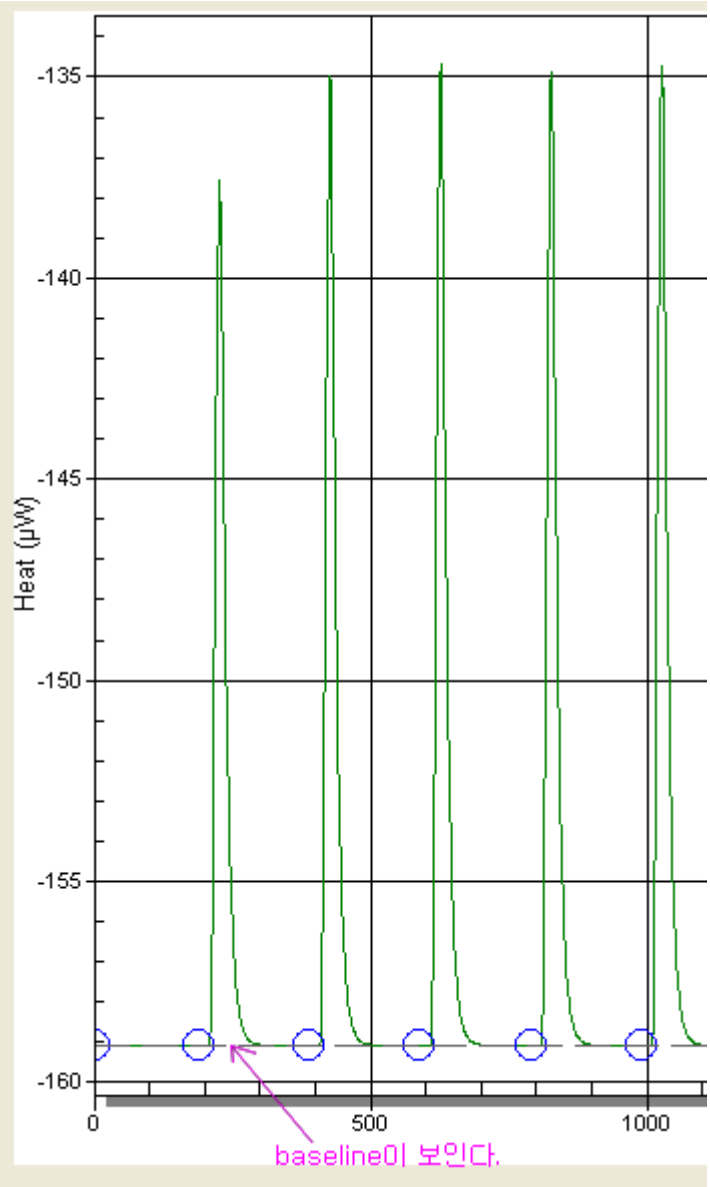


▲ 그림 14. 'data tab

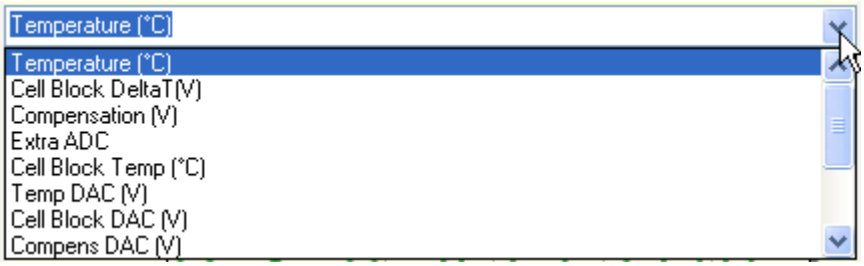
- Menu (& Tool) bar ; 왼편부터 'Undo zoom' (부분을 확대했다가 전체 화면으로 되돌아간다), 'subtract baseline'(baseline을 뺀다), 'show baseline'(baseline을 선으로 그어 보여준다), 'show area'(baseline을 설정하여 적분한 peak 면적을 숫자로 화면 상에 보여준다)를 선택할 수 있다. 'show baseline'은 다음 페이지 그림 15에 보인다.

- system ; 5페이지 'settings' 설명에서 'debug mode'를 체크해야 볼 수 있다. 장비의 현재 상태를 보여 준다.
  - 19 페이지 그림 17에 화면이 있다.
  - Default로 보이는 signal은 temperature(℃), cell block DAC(V), cell block temperature(℃), compensation(V)의 네 개다.
  - 위의 설정은 각 signal 옆의 풀다운 메뉴를 눌러 바꿀 수 있다. 아래에서 선택하면 된다. 다음 페이지 그림 16.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

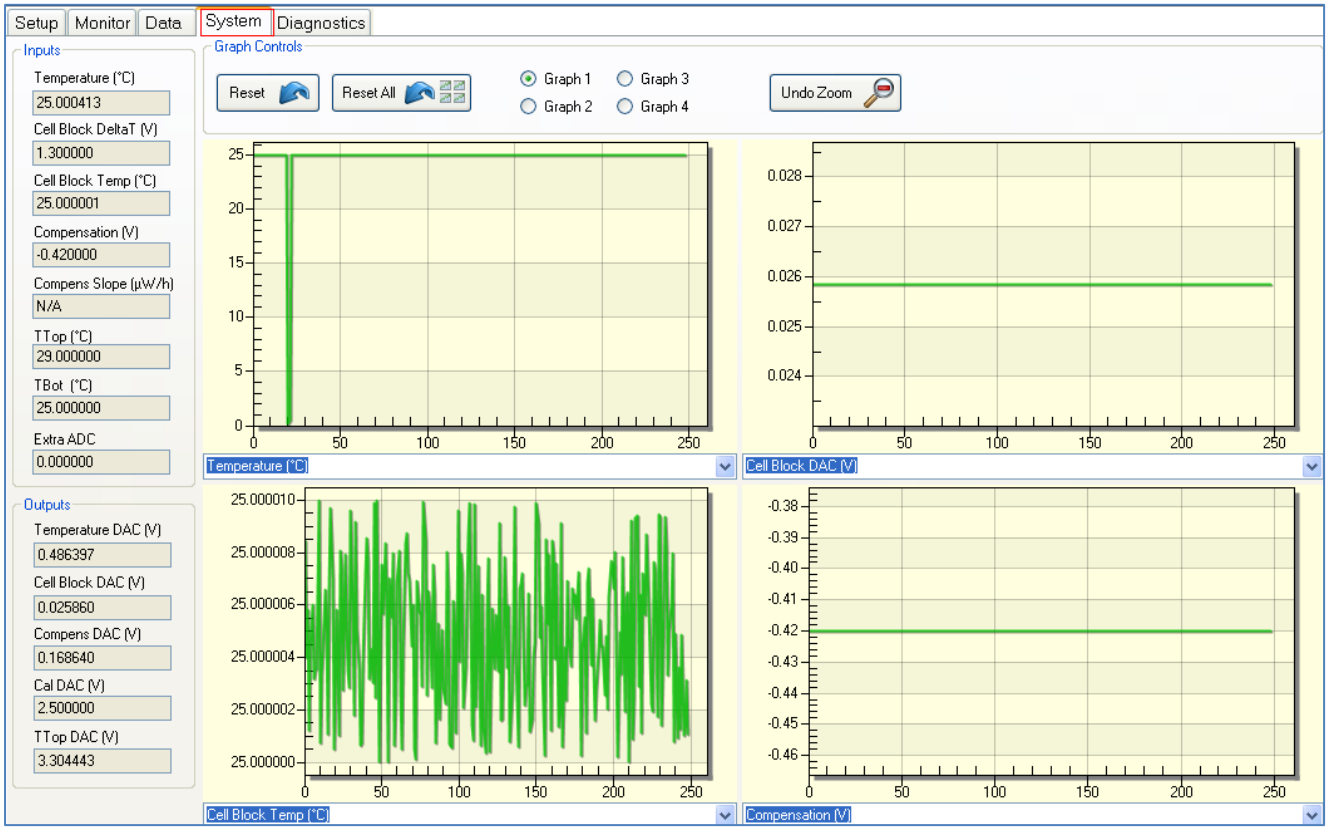


▲ 그림 15. ‘data tab에서 toolbar 기능; ‘show baseline’



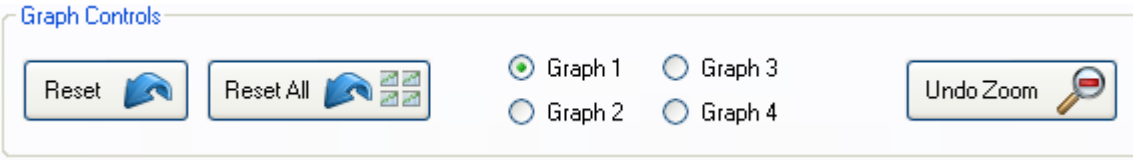
▲ 그림 16. ‘data tab’ ; 변수 선택

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 17. 'system tab; signal의 시간 변화를 보여 주는 화면

- 그림 17의 맨 위(화면 위)를 보면 graph control 부분이 있다.

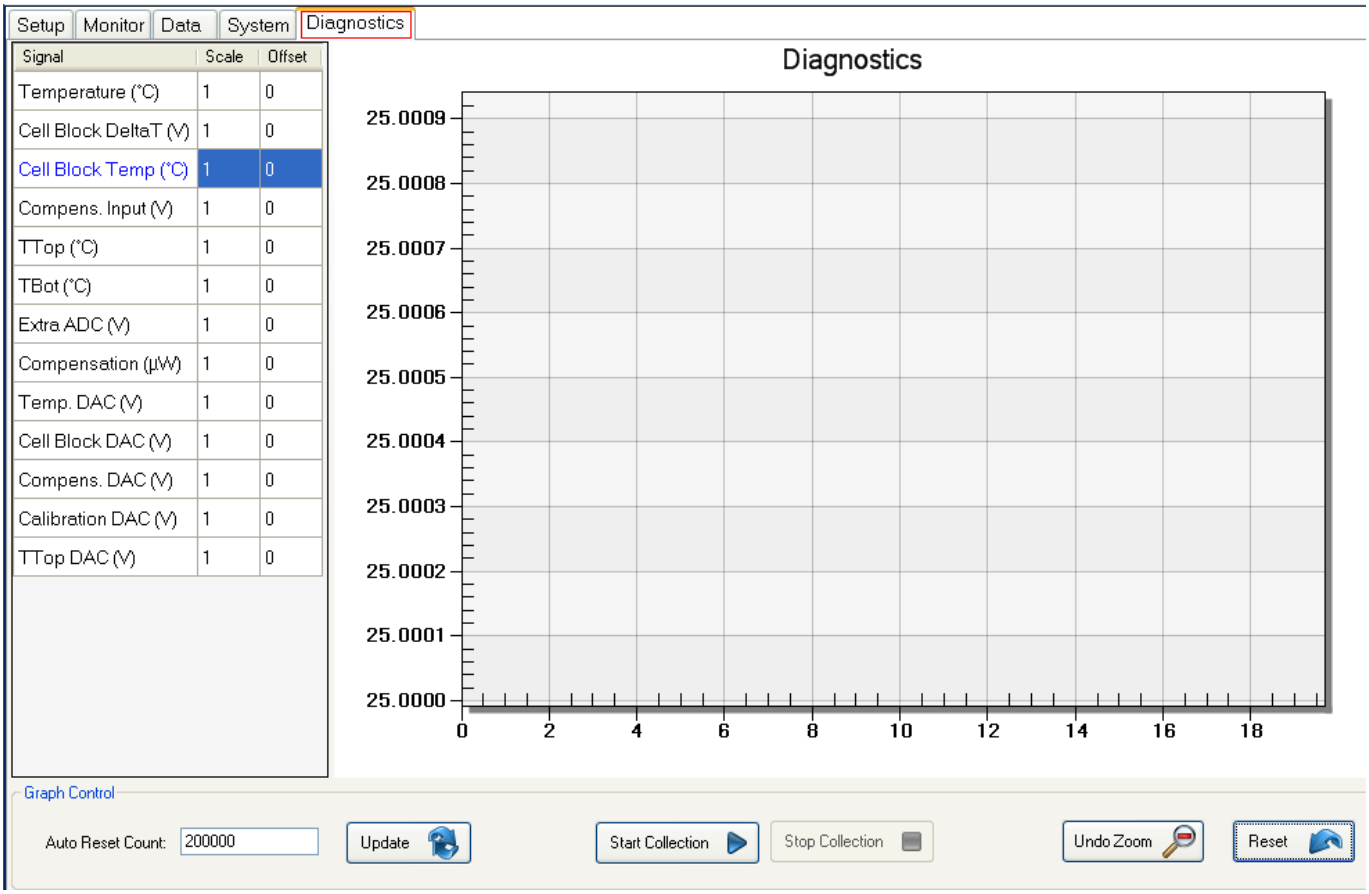


위에서 보듯이 특정 channel을 reset하여 다시 plotting을 시작하도록 하거나, rescale 등의 기능을 수행할 수 있다. 'don't average' check는 평균을 하지 않고 raw data 그대로를 plotting하게 해 줄 수 있다.

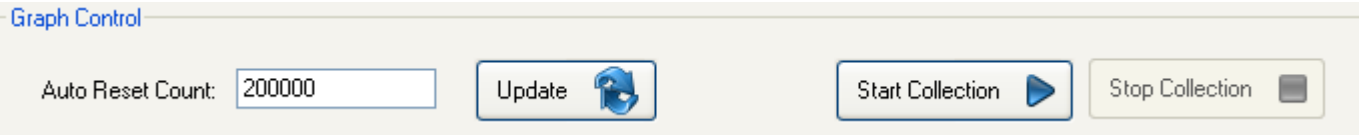
- Diagnostic ; 5페이지 'settings' 설명에서 'debug mode'를 체크해야 볼 수 있다. 다음 페이지 그림 18. signal을 좀 오랜 시간에 걸쳐 관찰하는 기능. Monitor tab은 data 로 기록되는 것만 관찰하지만, 이것은 그렇지 않은 signal도 볼 수 있다.

- 그림 18의 왼편 화면을 보면, 나오는 signal 종류를 선택할 수 있다. temperature, cell block, extra ADC, compensation의 기본 네 개 빼고 다른 것도 고를 수 있다.
- 볼 변수를 선택하고 아래(그림 19)에서 'start collection' 버튼을 누르면, 화면에 그래프가 나타난다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 18. ‘diagnostic tab’; 장시간 signal을 관찰하는 화면



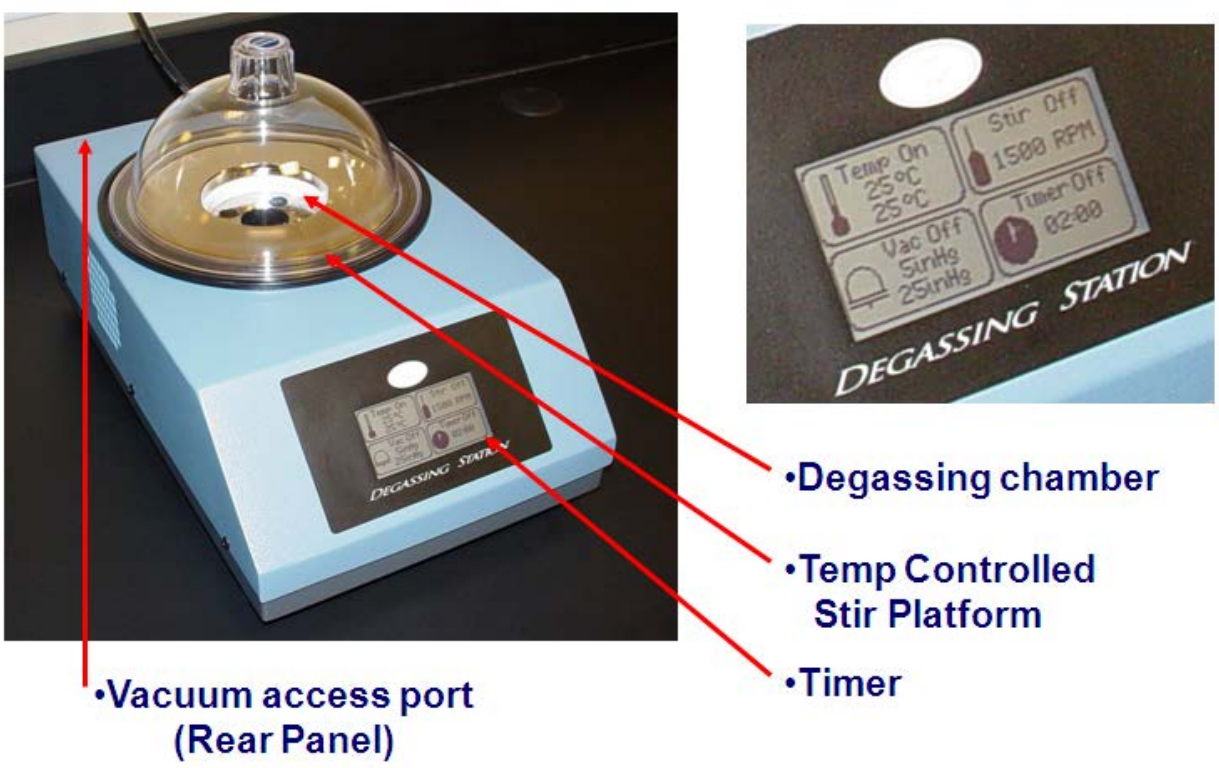
▲ 그림 19. ‘diagnostic tab’; 아래에서 graph setting을 바꾸는 곳.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

3. Sample loading

1) 용액 내 기체 제거(degassing)

- gas bubble로 인한 문제를 없애기 위해, 실험 전에 sample cell에 넣을 solution 및 sample syringe에 넣을 titrant의 기체를 반드시 제거해야 한다.
- 이 때는 장비와 같이 들어오는 degassing station을 사용한다.



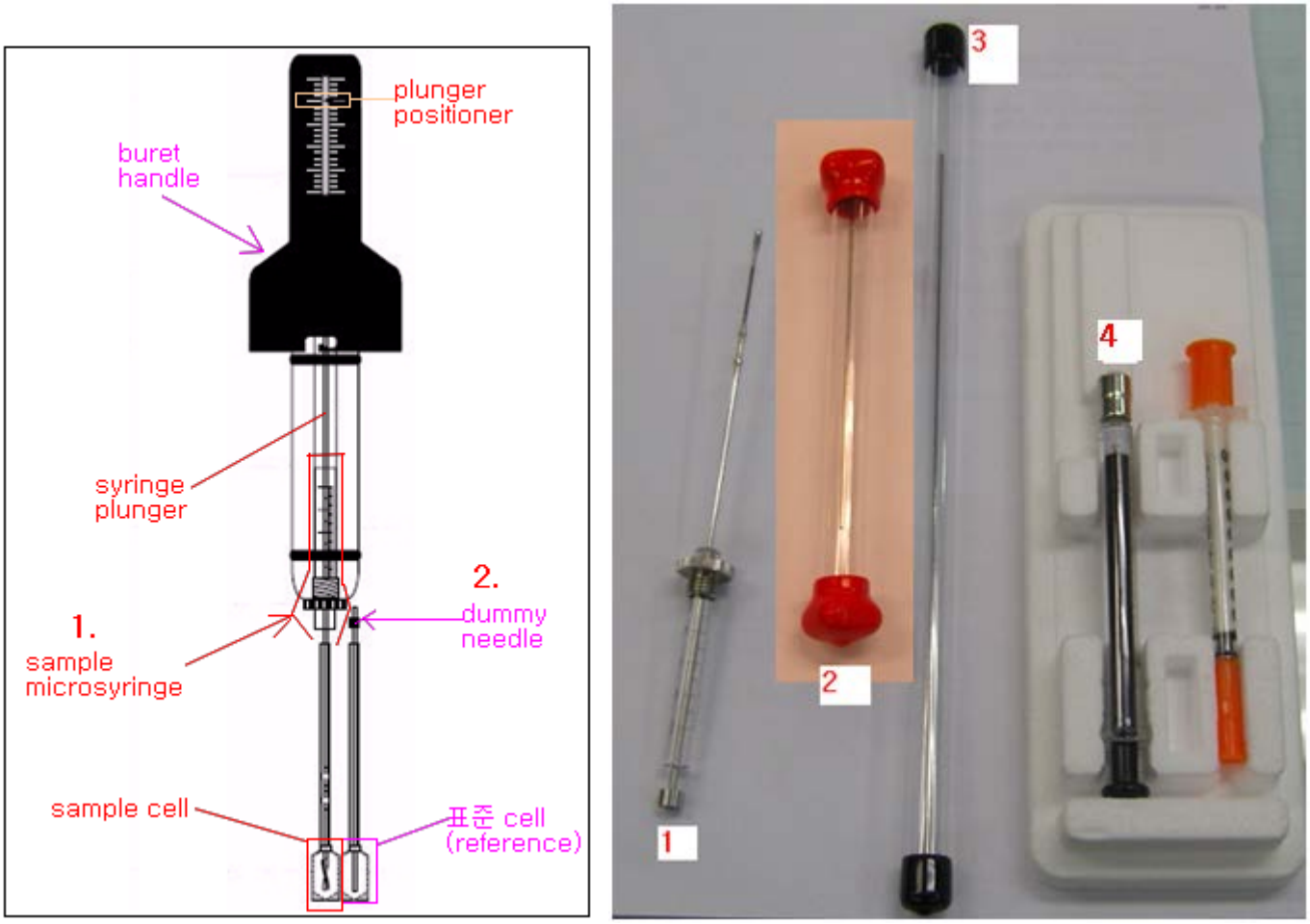
▲ 그림 20. Degassing station의 사진. 오른편에 touchscreen panel이 보인다. 스위치는 뒷면에.

- 적절한 작은 vial을 사용하여, titrant와 solution을 부은 후 chamber 안의 구멍에 맞도록 얹고 뚜껑을 덮은 후 터치스크린 panel에서 vac off/on 부분을 건드린다. On 상태가 되면 진공을 걸 수 있는데, solution 또는 buffer를 걸었을 때는 대략 130mmHg 정도로(그냥 full vacuum으로 하면 된다) 15min 정도가 표준이다. 처음에 진공이 잘 걸리지 않으면 뚜껑을 살짝 눌러 주면 걸린다.
- 시료/용액 양에 따라 융통성 있게 대처한다. 가령 작은 양을 걸고 너무 오래 돌리면 다 말라 버리는 수가 있으니 주의한다. 반면 양이 많은 경우는 같이 들어가 있는 magnetic stirrer를 사용하거나, 도중에 한 번 세우고 흔들어 주어서 용액의 위아래가 섞여 주게 한다.
- 사용 방법은 전혀 어렵지 않으니 station과 같이 들어간 manual을 보는 것으로 충분할 것이다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

2) 주사기(syringe)와 바늘

- 8페이지 그림 9의 왼편 그림(아래 왼편)에서, 표준과 sample cell을 채우고 주사기(sample syringe)를 꽂아야 한다. 거기 사용하는 주사기 및 도구들은 아래와 같다.



▲ 그림 18. 왼편은 syringe 등을 다 장착했을 때의 모습이며, 오른편은 그에 사용하는 도구들.

- 그림 18의 도구들의 이름은

1 – sample microsyringe. Titrant를 넣는다.

2 – dummy needle. 표준(Reference) cell에 넣어야 한다.

3 – filling needle. Filling syringe 앞에 연결하여 사용.

4 – filling syringe. 표준과 sample cell에 각각 buffer(대부분 water)와 sample solution을 넣을 때 사용한다.

3) 시료/용액 filling 절차

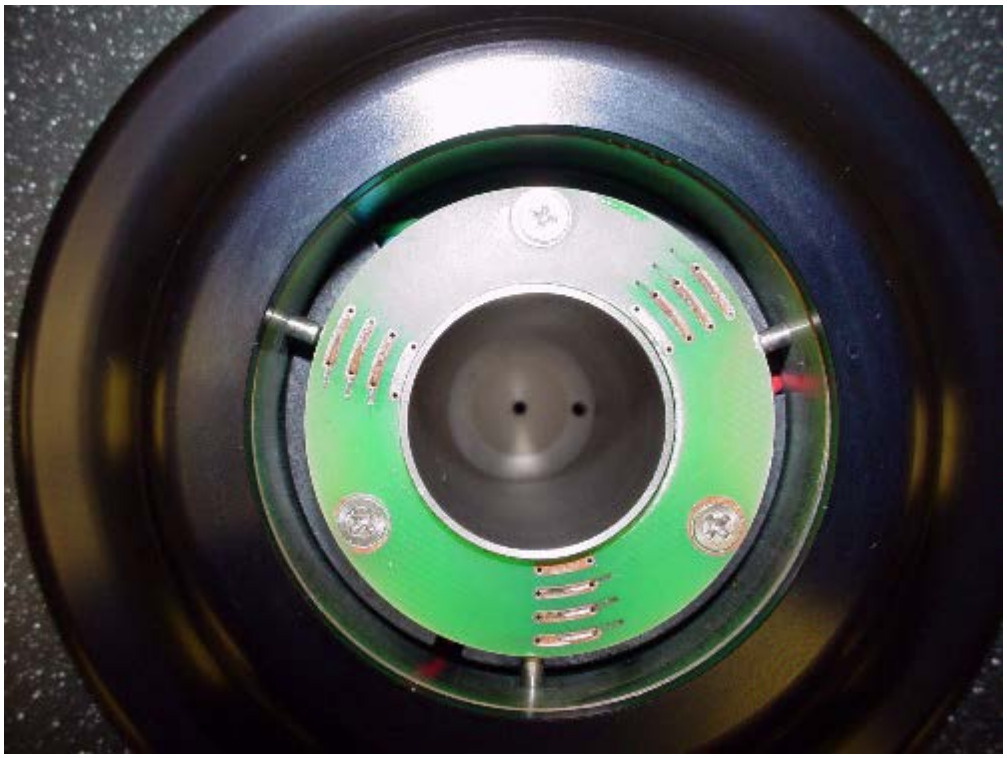
- Filling syringe에 needle을 연결한다. 꼭지에 끼워 시계 방향으로 약간 돌려 주면 된다. (다음 페이지 그림 19페이지)
- Filling syringe에 degassing을 마친 buffer 또는 water를 주사기를 사용하여 넣어야 한다. Water-based solution을 적정한다면 대부분 water를 사용하면 된다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 19. filling syringe에 needle를 연결한 모습. 오른편 위는 dummy needle을 장착할 때 쓰는 핀셋.

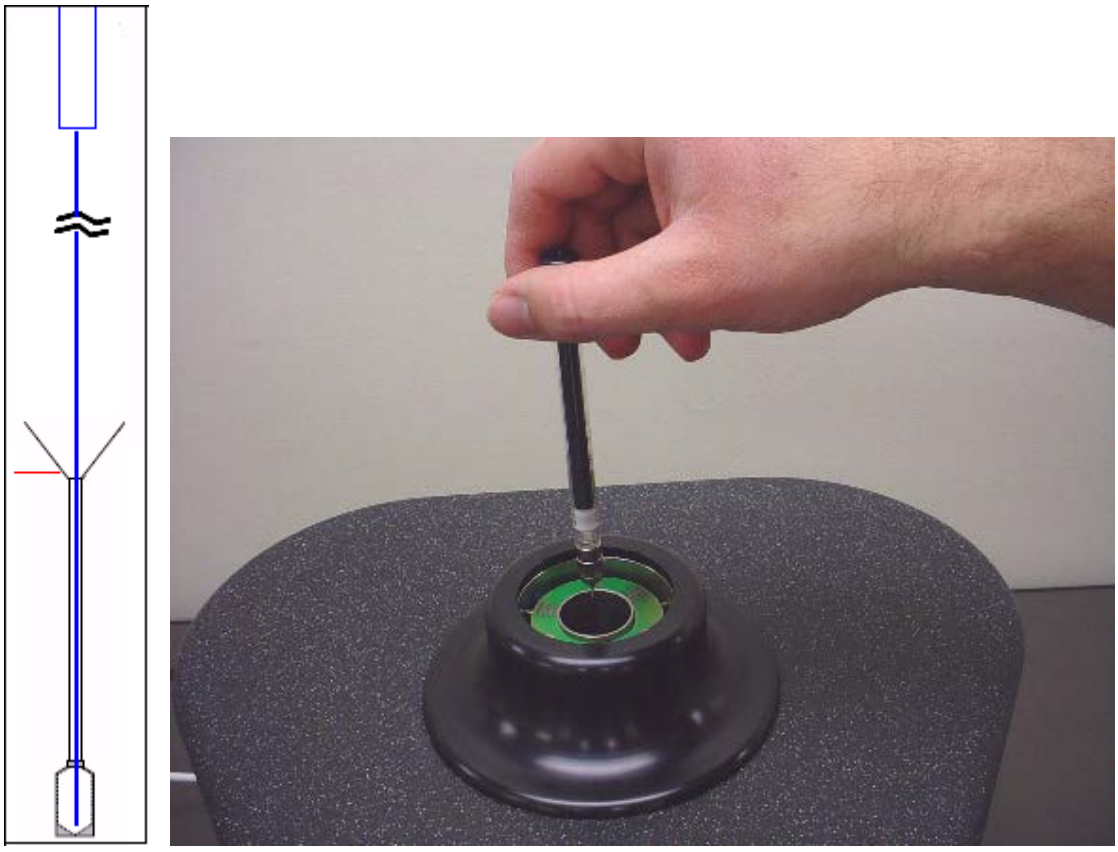
- 아래 사진처럼, 장비 앞쪽에서 속을 내려다보면 구멍이 두 개 보인다. 왼편이 sample solution을 넣는 sample cell이고 오른편이 buffer/water를 넣는 reference cell이다.



▲ 그림 20. nITC의 buret을 빼고 속을 들여다본 그림. 좌우 방향이 그림 18의 왼편 그림과 같다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

- 앞 페이지 그림 19처럼 이미 연결한 filling syringe를 사용하여, 아래 그림 21의 왼쪽처럼 cell 바닥과 거의 닿은 지점까지 needle을 넣고 buffer/water를 cell로 밀어 넣는다. 이렇게 해야 cell 내부의 air가 다 빠질 수 있다.
  주의] **힘 너무 가해서 cell을 변형시키면 장비 새로 사야 할 수도 있으니 주의. 아래 사진처럼 무턱대고 한 손으로 하지 말고, 왼손으로(왼손잡이면 오른손으로) 주사기 아래 부분을 잡아주는 편이 좋을 것이다.**

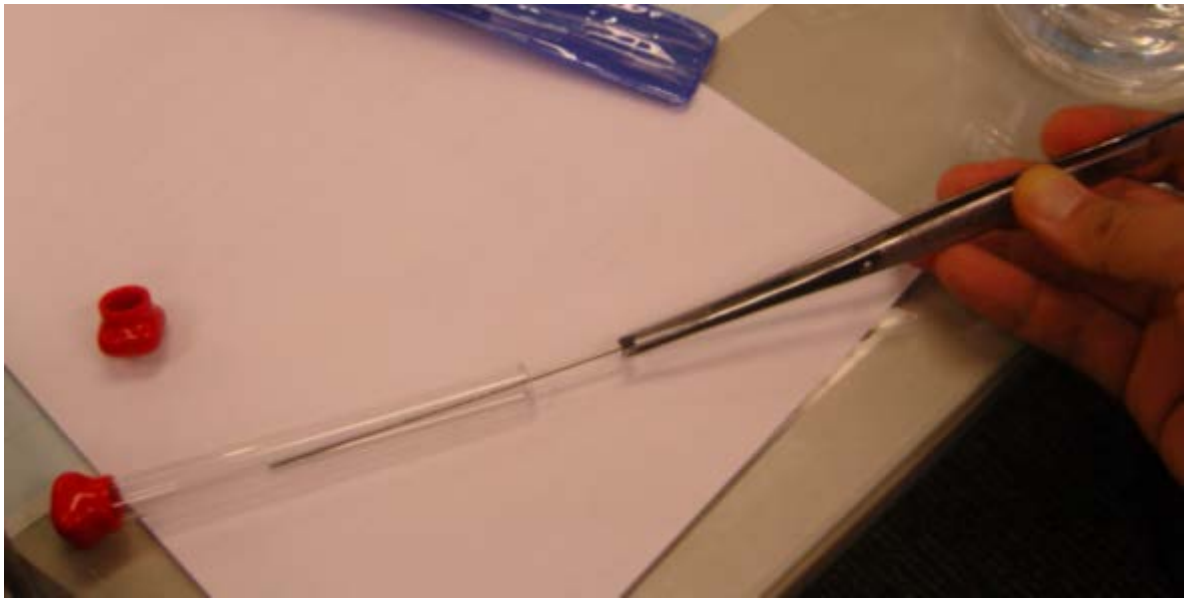


▲ 그림 21. Cell에 solution/buffer를 주입하는 모습. 왼편 그림에서 붉은 수평선은 standard volume nITC의 'fill line'이다. Small volume nITC의 경우 이것보다 훨씬 낮아도 된다.

- 중요한 점; 액체를 채우는 높이는, **standard volume의 경우 위 왼편 그림의 붉은 선 정도까지만 (즉 주입하면서 '다 올라온 것이 눈에 보이자마자) 하면 되고, small volume의 경우에는 0.3㎖(=300㎕) 이상**임에 주의하라. 후자의 경우 주사기로 정확하게 300㎕를 재서 넣으면 된다. 이것보다 크면 측정에 별 문제가 없지만 작으면 data가 흔들릴 수 있다.

- Reference cell에 위 요령으로 buffer/water를 다 넣고 나서, dummy needle을 집어넣어야만 한다. 우선 다음 페이지 그림 22처럼 case에서 dummy needle을 빼낸다. 핀셋은 그림 19에 있는 것을 그대로 쓰면 된다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 22. Dummy needle 빼내기

- 핀셋으로 잡은 채, reference cell에 아래 사진처럼 dummy needle을 집어넣는다.



▲ 그림 23-1. Dummy needle 삽입

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 23-2. Dummy needle 삽입 완료. 반사광 때문에 잘 안 보이긴 하지만 확실히 들어감

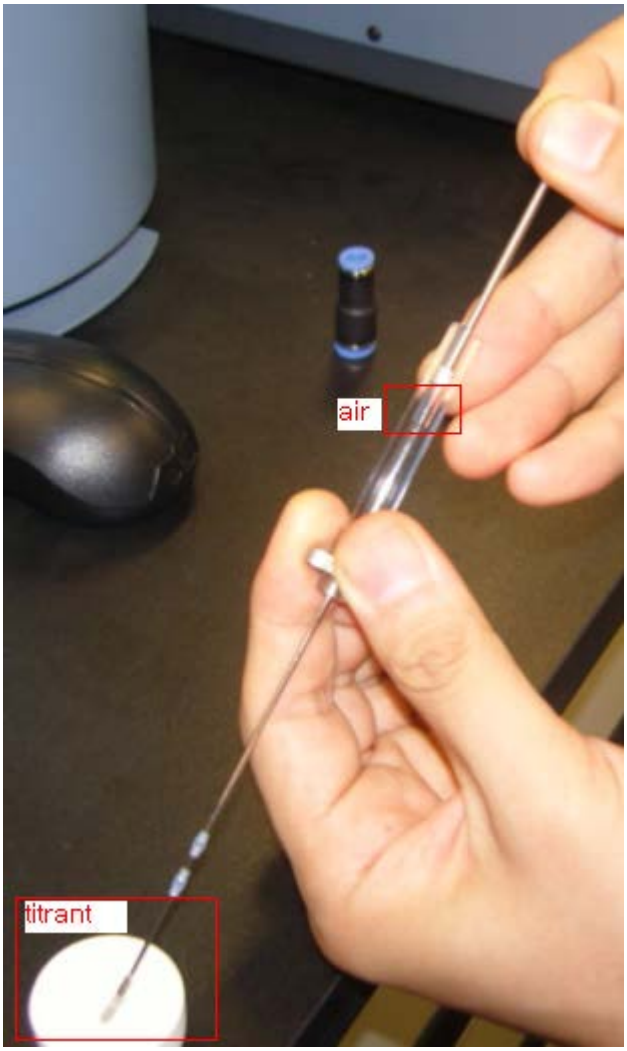
- 24페이지와 같은 요령으로 sample cell에도 solution(titrand)을 주입한다. 같은 주사기를 사용하게 되므로, 사전에 주사기 내에 남아 있는 buffer/water를 확실히 제거하도록 하자(아니면 solution으로 한 번 씻어내도 된다. Solution이 너무 비싸지만 않다면 말이다).

여기까지 하면 cell filling은 다 끝났다.

4) 시료 주사기(sample microsyringe for titrant)에 시료를 넣는다.

- 이 요령이 좀 까다롭기 때문에 사진을 많이 첨부한다.

- 오른쪽 그림 24-1처럼 titrant를 빨아올린다. 잘 보면, plunger 끝에 air가 좀 있는 것을 알 수 있다.



▶ 그림 24-1. 시료 주사기에 titrant를 넣는 과정

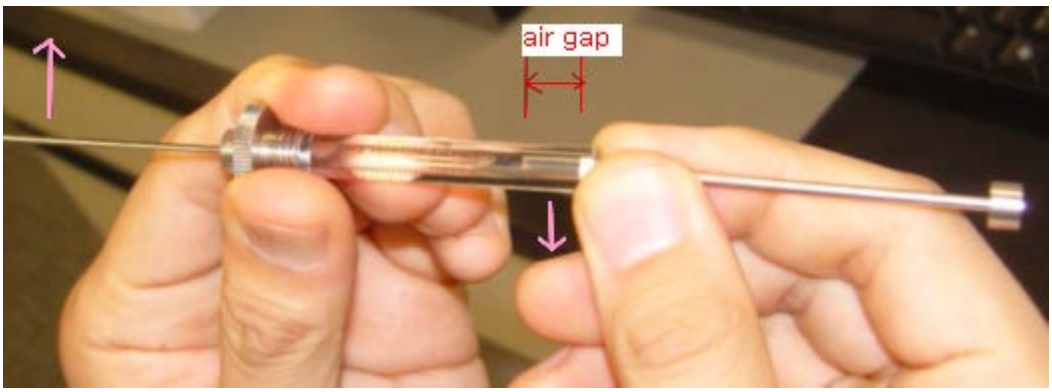
- 오른쪽 사진에서 보이는 정도의 air gap은 너무 크다. 따라서 이것을 좀 줄일 필요가 있다.

- 다음 페이지 그림 24-2처럼, 주사기를

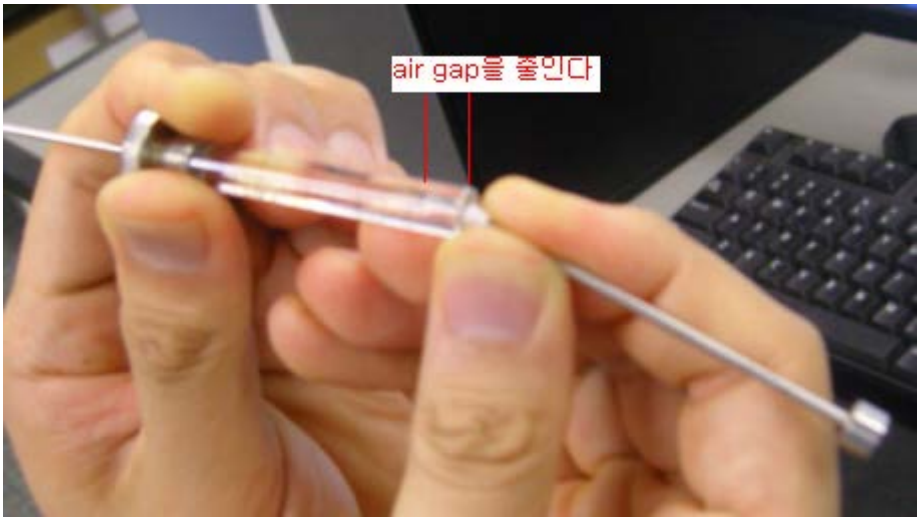
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

기울인 채 plunger를 살짝 빼 주면 titrant 기둥이 흘러서 air gap이 점점 줄어든다.

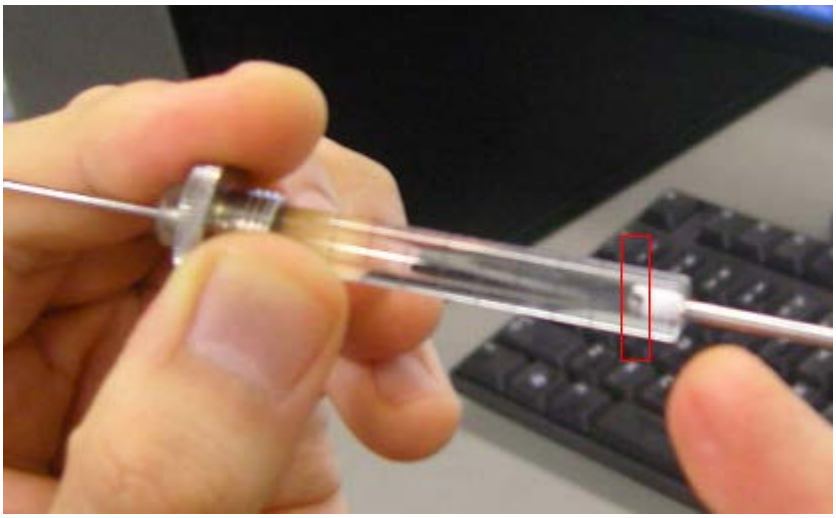
- **제대로 맞춘 사진이 그림 24-4이다.** 어느 정도인지 감을 잡으시기 바란다.



▲ 그림 24-2. 주사기를 기울이는 각도와 plunger 빼내기 (1)



▲ 그림 24-3. 주사기를 기울이는 각도와 plunger 빼내기 (2). Titrant가 흘러내리지 않게 주의

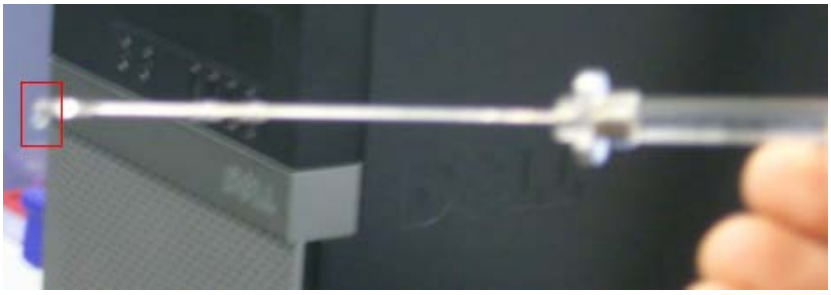


▲ 그림 24-4. 제대로 다 된 사진

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

● 이렇게 하면 plunger를 인위적으로 뒤로 당겨 놓은 상태다. 따라서 plunger를 앞쪽으로 밀어, 주사바늘 앞에 생겨 있을 공간을 없애야만 한다. (공기 방울이 cell로 들어가면 당연히 noise가 생긴다)

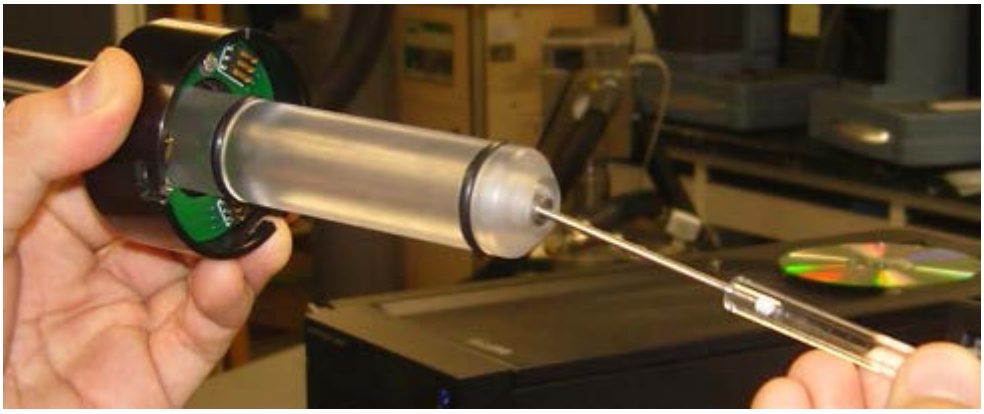
- 아래 그림 24-5처럼, 바늘 끝에 방울이 살짝 보이면 plunger를 멈춰야 한다. Titrant도 값이 비싼 수가 많으므로 주의한다.



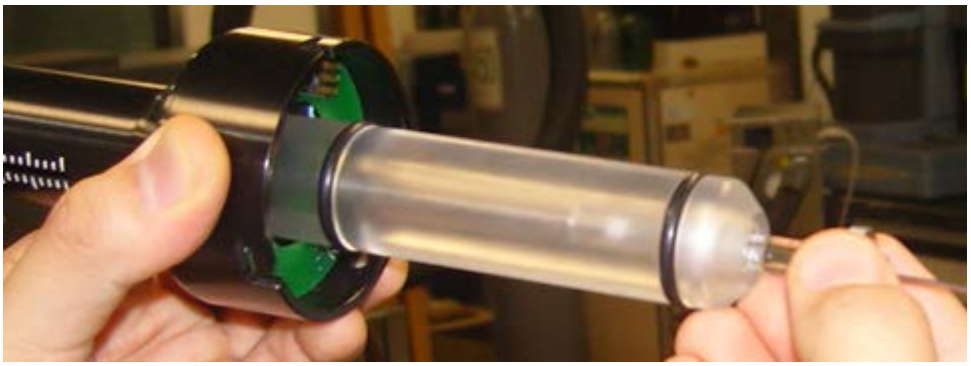
▲ 그림 24-5. 주사바늘 끝에 생긴 titrant 방울에 주목하라.

- 바늘 끝의 titrant를 보풀이 떨어지지 않는 kimwipes 등으로 주의 깊게 제거한다. 그냥 놓아 두면 당연히 실험 결과에 영향을 미칠 것이다.
- 유의할 점 ; **가능하면 titrant는 주사기 부피 다 채워서 쓰도록 한다.** 100㎕ 주사기면 100㎕, 50㎕ 주사기면 50㎕ 이렇게 말이다. 그래야 적정 실험 때 error가 적다.

5) 이 시료 주사기를 buret에 장착한다. 사진으로만 보면



▲ 그림 25-1. Plunger 쪽으로 buret의 구멍에 넣고



▲ 그림 25-2. 주사기 몸체를 죽 밀어넣으며

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 25-3. 다 밀어넣은 후에



▲ 그림 25-4. 나사를 돌려 꽉 조여서 끝낸다.

6) 주사기 장착을 끝낸 buret을 본체에 장착한다.



▶ 그림 26-1. Buret 장착 (1)

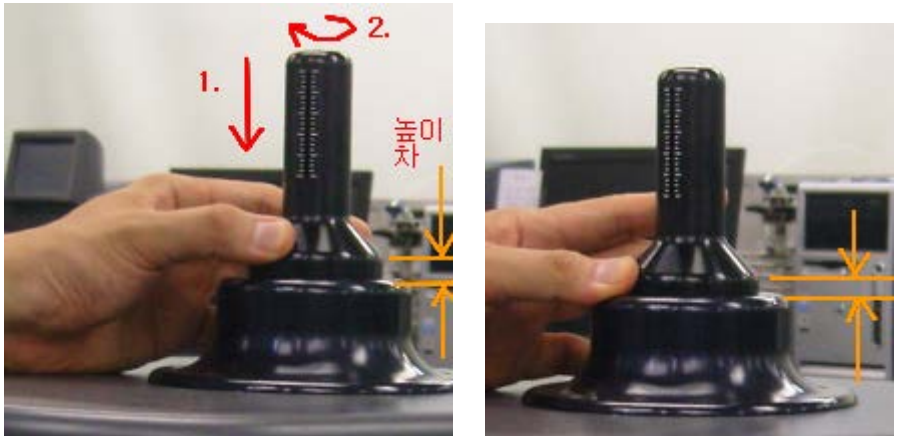
- 끼는 방향은 오른편 그림 26-1처럼 하면 된다. **장비 앞면 쪽으로 buret의 눈금 있는 면이 오도록 하여 수직으로 똑바로 살살 밀어 넣어야 한다.** 혹시 걸리는 듯한 느낌이 나면 절대 조심하기 바란다.

  주의] 대개 수직 방향이 sample cell의 구멍과 잘 맞지만, 혹시 약간이라도 틀어진 상태에서 억지로 힘을 가하면 주사 바늘이 휘어질 수 있다. 이 경우 적정용의 **매우 비싼** 주사기를 새로 사야 할지 모르니 부디 살살 밀어넣도록.

- Buret 본체를 밑까지 다 내린 상태에서, 아

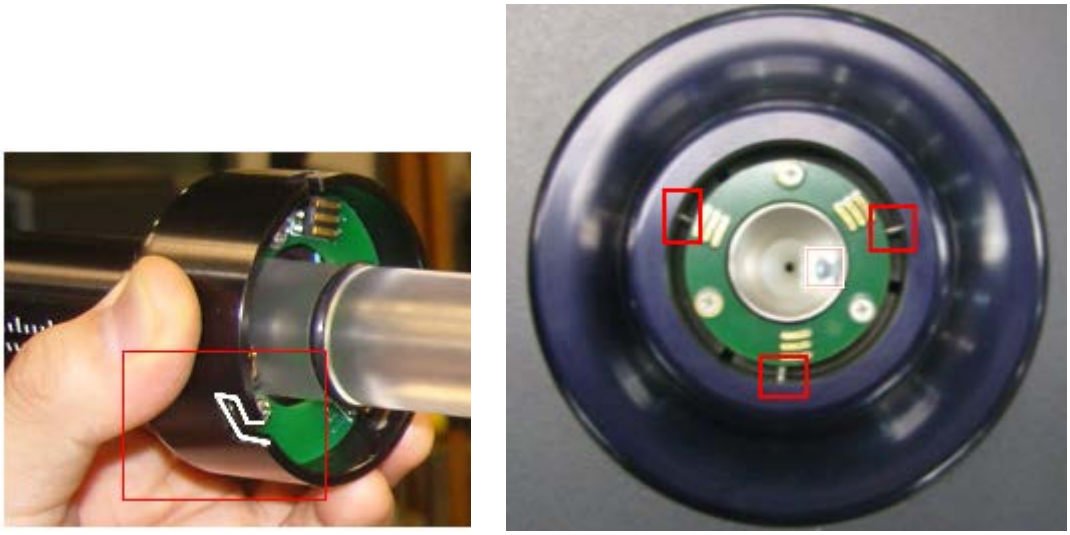
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

래로 살짝 누르고 시계 방향으로 돌려 고정한다.



▲ 그림 26-2. 왼편 사진의 상태에서, 특정 위치에서는 아래로 힘을 주면 buret이 약간 아래로 더 움직인다. 이 상태에서 시계 방향으로 돌리면 약간 돌아간다. 오른편에 화살표로 표시해 놓은 높이 차이가 보이는가?

- 위처럼 '걸려 고정되는' 이유는, buret의 끝에 걸리도록 만든 부분이 있기 때문이다.



▲ 그림 26-3. Buret 아래쪽의 사진(왼편)을 보면, 하얗게 표시한 윤곽처럼 잘라 놓은 부분이 세 군데가 있다. 이것이 오른편 사진의 붉은 네모로 표시한 부분에 걸려 고정된다.

- 이렇게 장착을 다 마치면, 12페이지의 'setup' tab에서 실험을 시작하면 된다.
- 실험 다 끝나면, 결과 분석은 MMK0002를 참고.

4. 실험 종료 후 세척(cleaning)

1) 실험 후 당연히 깨끗하게 유지해야지, 그렇지 않으면 나중에 유기물 등이 붙었을 때 제거가 꽤 힘들 수 있다.
2) 우선 buret을 분리하기 전, plunger가 끝까지 다 올라갔나 확인한다. 5페이지 settings에서 'move buret to top after experiment'를 선택해 놓았으면 괜찮지만, 그래도 22페이지 사

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

진(그림 18의 오른쪽)에서 plunge positioner가 맨 위에 갔나 다시 확인해 본다.

3) 앞에 buret을 장착할 때의 역과정으로, buret을 본체에서 빼낸다.

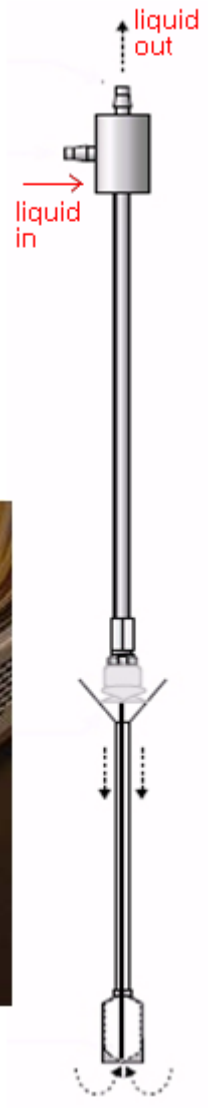
4) 세척 도구(cleaning tool)를 꺼낸다.



▲ 그림 27. Cleaning tool

5) 세척 도구를 sample cell에 오른쪽 그림처럼 장착한다.





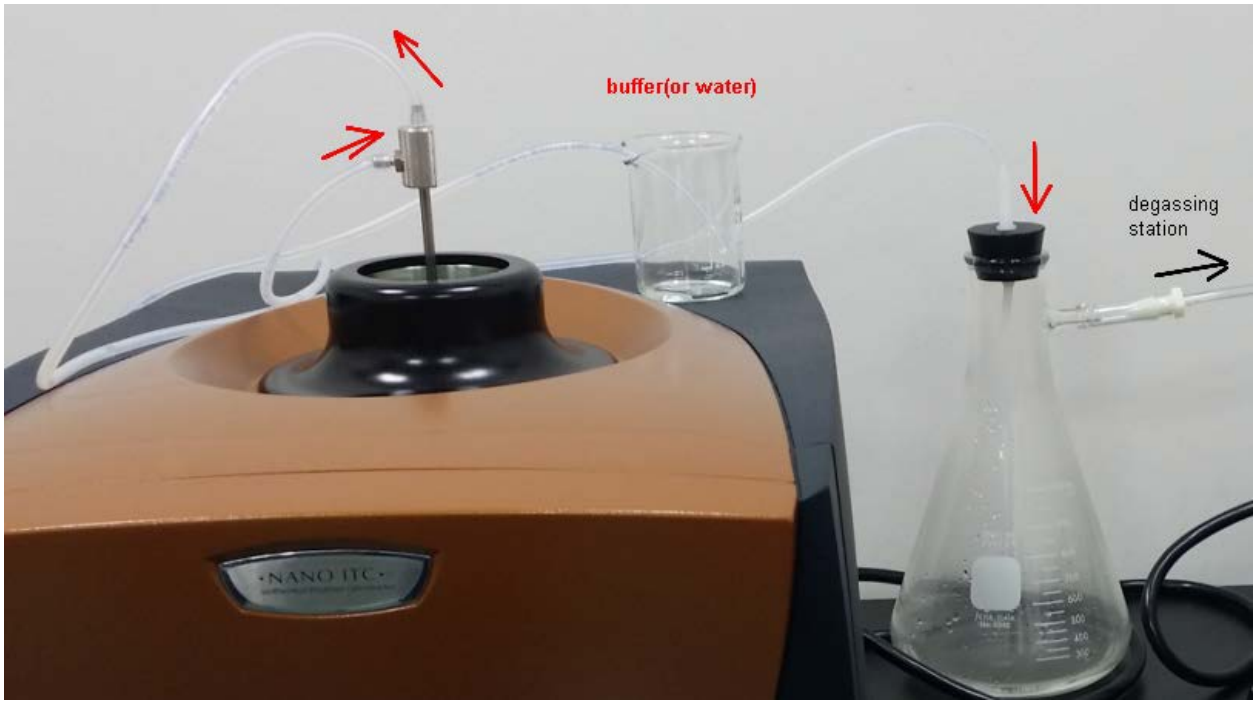
- 제대로 꽂아 넣고 cell을 내려다보면, LED가 작동하여 불이 켜진다.
- 옆에 degassing station을 갖다 놓고, 'liquid out' port를 같이 딸려 있는 플라스크 위편으로 연결한다.
- 플라스크 옆면에 난 port를 degassing station의 흡입구에, 원터치 조인트(포함)로 연결한다. 바로 오른쪽 아래 그림이다.



▶ 그림 28. Cleaning tool의 장착(1)

- 'Liquid in' port에 line을 꽂고, cleaning buffer/water를 담은 비커에 연결한다.
- Degassing station의 뚜껑을 덮는다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



▲ 그림 28. Cleaning tool을 제대로 모두 연결한 모습 (2014-05-29 update)

- Degassing station을 가동하면, buffer/water가 빨려나와 cell을 통과하게 된다.

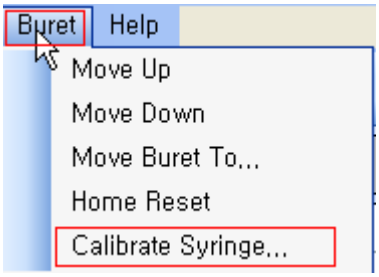


▲ 그림 29. Degassing station 가동 조건

6) 당연한 얘기지만, filling/sample syringe 및 필요하면 reference cell 쪽도 청소해 놓는다. Reference 쪽은 물만 사용하는 경우가 많을 테니 대부분은 청소가 필요 없다.
7) 대략 한 주일 이상 사용하지 않을 경우는 꺼 놓는다. 가능하면 계속 켜 놓는 편이 온도 안정을 위해서 좋다. 하지만 장기간 안 쓸 경우 적어도 **1~2주에 한 번 물을 갈아 주기를 강력히 권장**한다. 곰팡이가 생기는 경우가 있었다.

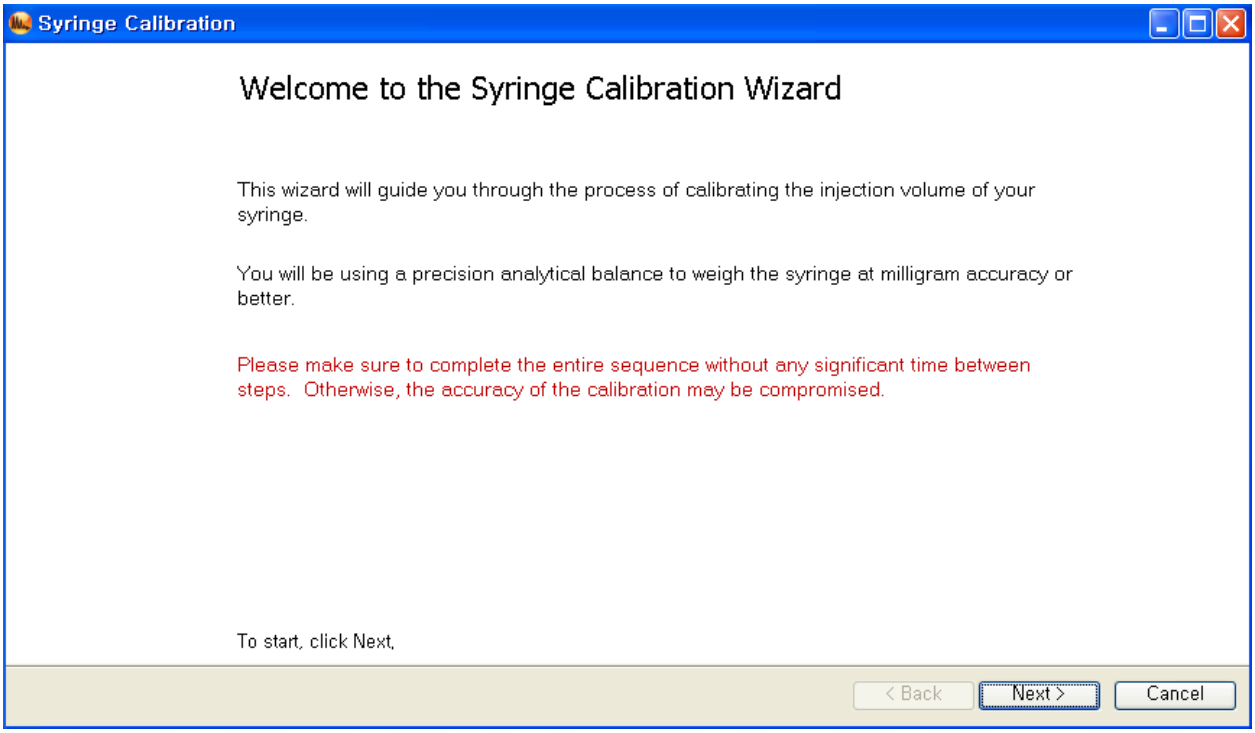
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

[부록 1.] syringe calibration(9페이지)의 방법



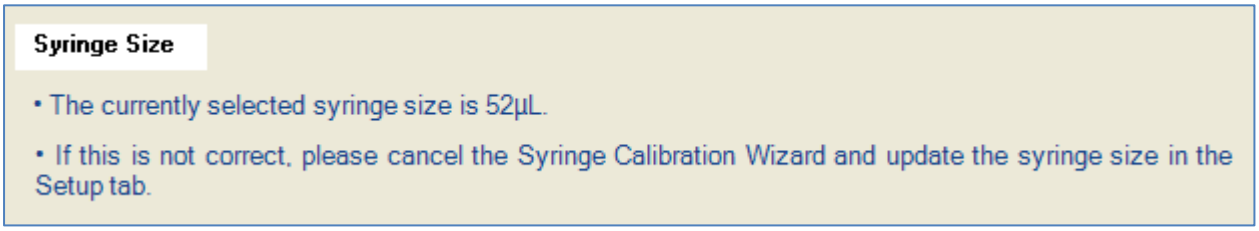
TA nITC는 microsyringe를 calibration하는 menu를 제공한다. syringe에 물을 채운 전후 중량을 비교하는 아주 간단한 방법이다. 중량을 정확히 비교해야 하므로, 특히 small volume nITC의 경우 50 microliter(대략 50mg)를 정확히 재야 하므로 0.01mg까지 되는 저울이 필요하다.

Main menu의 'Buret'에서 'Calibrate syringe...'로 가면(오른쪽 그림) 아래 창이 뜬다.

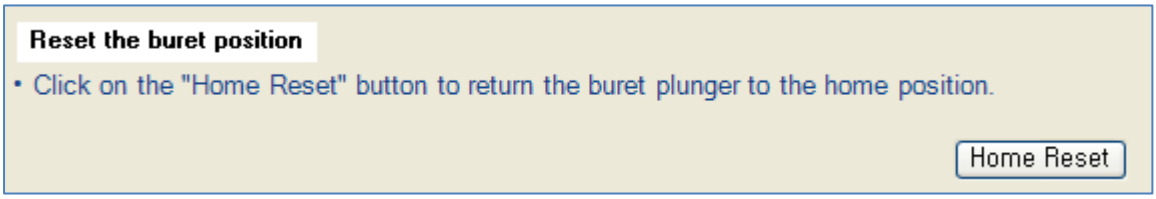


▲ 부록 그림 2. Syringe calibration wizard 첫 화면

Next를 누르면 다음 메시지 순서가

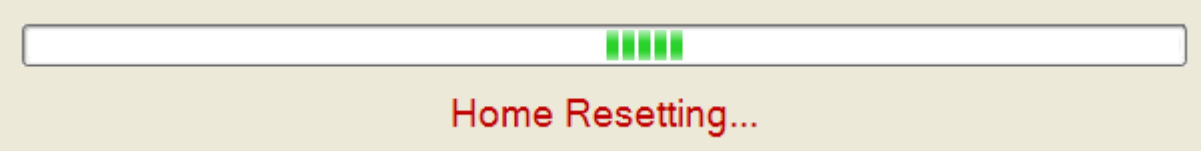


Syringe setting이 맞으면 next.

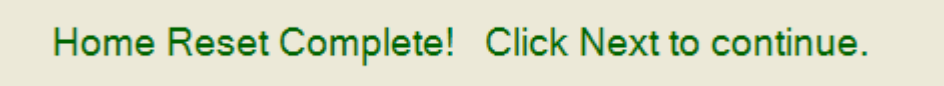


© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

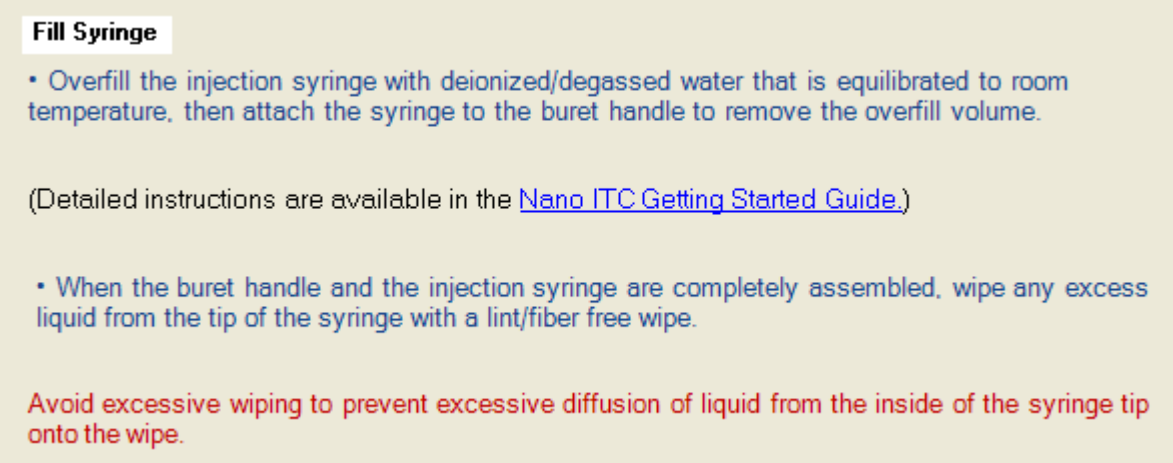
Home reset button을 누르면



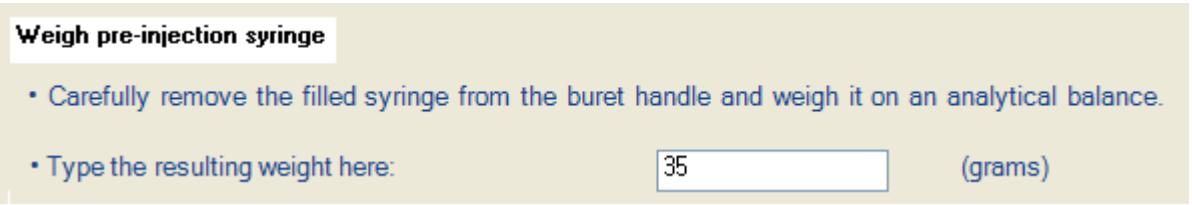
Plunger가 맨 위 위치로 돌아간다.



Next를 누르면 아래 메시지에서 실제 실험 준비할 때처럼 '물 다 채우고 piston position 맞추고 주사기 바늘 끝 나온 것 닦아라'는 지시가 나온다. 앞 26~30페이지 참고. 너무 많이 닦으면 주사기 바늘 안의 액체가 딸려나오기 때문에 곤란한 것도 마찬가지.

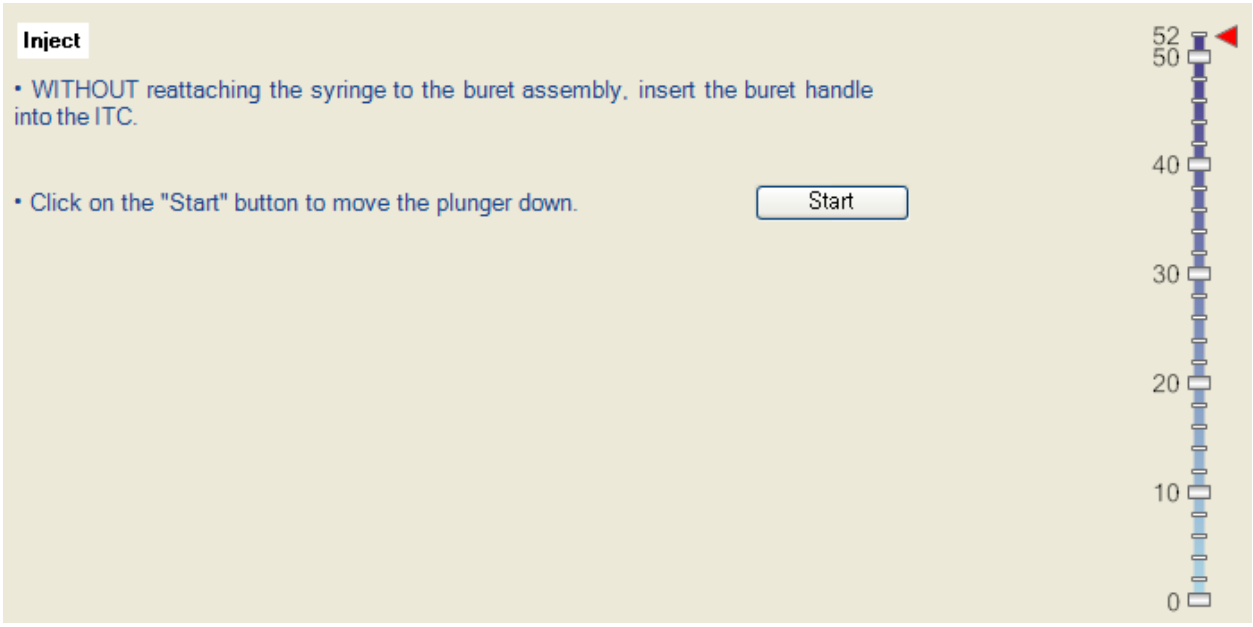


Next 누르면 아래와 같이 되는데, '물 다 채운' 주사기 중량을 아래에 입력한다(아래엔 임의로 35g을 넣었음).

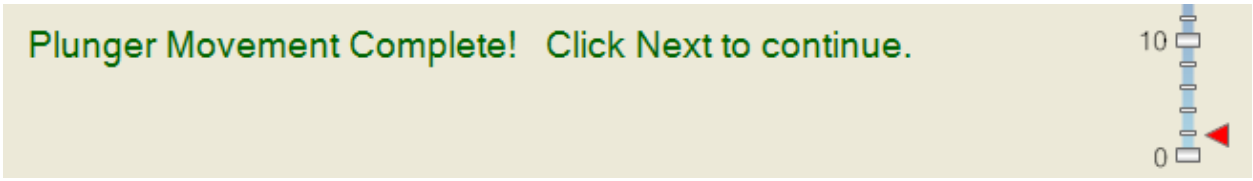


이제 buret을 장착하지 말고, next로 넘겨서 'Start' 버튼을 누른다. 그러면 오른편에 보이듯이 marker가 죽 내려가면서 metering pump를 잡아 준다.

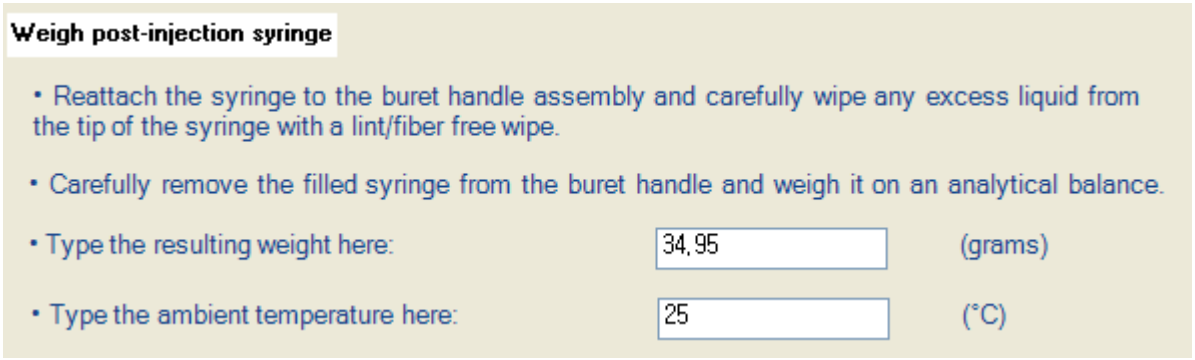
© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp



다 끝나면



이제 주사기를 buret에 장착한다. 그러면 물이 밀려 나온다. 주사기 끝을 잘 닦고, 중량을 잰다. 실온을 입력한다.



이렇게 하면 결과가 나온다(다음 페이지 그림).

- Expected volume / actual volume 값이 'syringe calibration factor'가 된다.
- 이 값이 1.00 ± 0.05 의 밖에 있으면 (즉 오차가 5% 이상이면) 오류로 간주하고 다시 하도록 지시가 뜬다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

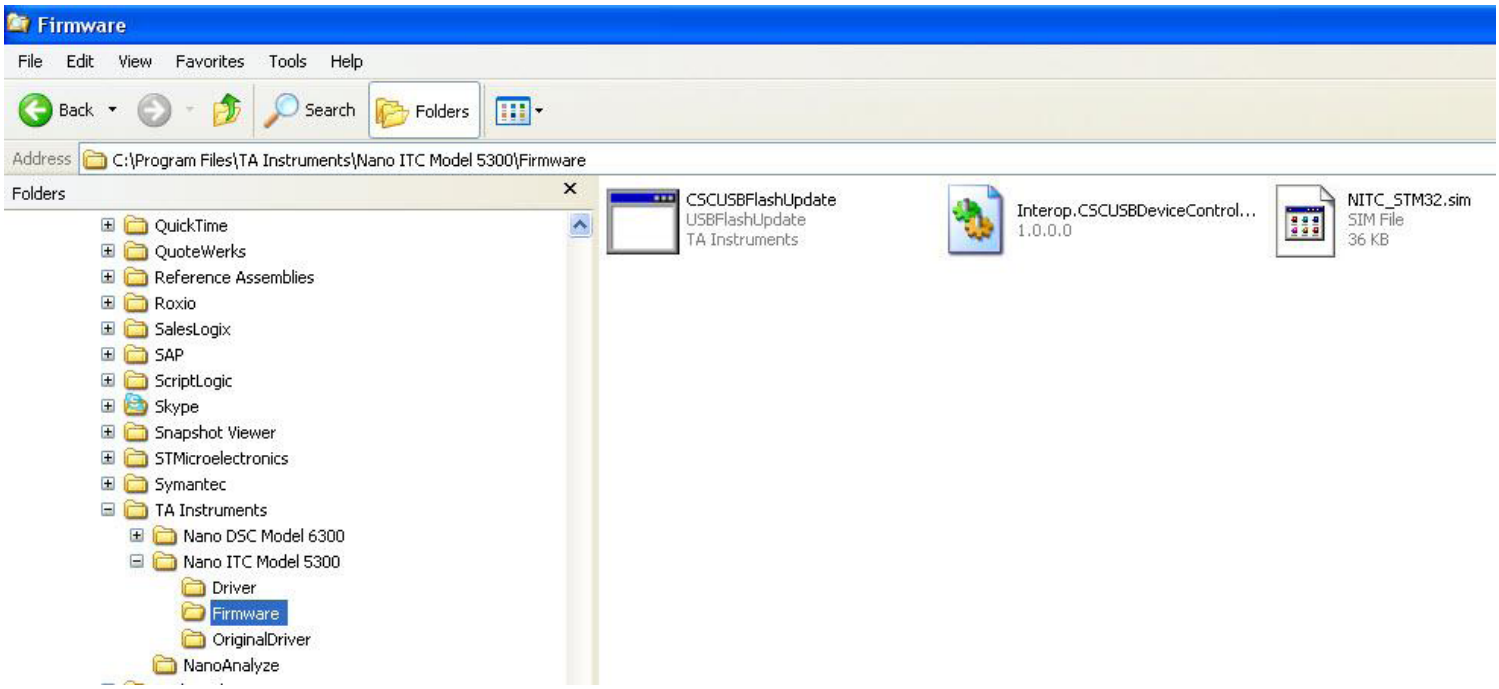
Results

• Syringe Size:	52	(µL)
• Pre-injection weight:	35	(grams)
• Post-injection weight:	34.95	(grams)
• Ambient Temperature:	25	(°C)
• Expected Volume:	49.92	(µL)
• Actual Volume:	50.15	(µL)
• Current Syringe Calibration Factor:	1	
• New Syringe Calibration Factor:	0.9955	

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp

[부록 2.] ITCRun update 때 장비와 연결이 잘 안 되면 다음 경로를 밟는다.

- Step 1: ITCRun software를 제대로 다 설치(단 설치 중 경로를 바꾸지 않아야 함)
- Step 2: C:\Program Files\TA Instruments\Nano ITC Model 5300\Firmware 로 들어간다. 이 folder에는 file이 셋이 보이는데, CSCUSBFlashUpdate, interop...., 그리고 NITC_STM32.sim 이다.



▲ 부록 그림 1. Firmware 조치 화면

- Step 3: “CSCUSBFlashUpdate”를 더블 클릭하여 실행
- Step 4: ‘Instrument Type’ 메뉴에서 “Nano ITC”를 고른다. 고를 수 있으려면 nITC본체를 켜서 PC 본체에 USB cable로 연결해 놓아야 한다.
- Step 5: firmware file을 찾게 만들기 위해, “Select” button을 click하고 step 2에서 말한 폴더를 찾아간다.
- Step 6: 여기서 “NITC_STM32.sim”를 고른다.
- Step 7: “Update” button을 클릭하고, 지시를 따른다.
- Step 8: 다 끝나면 Windows 창을 전부 닫는다.
- Step 9: nITC 본체와 PC 전체의 전원을 모두 끈다. Reboot를 1~2회 해 준다. 대체로 한 번 하면 되지만 2회 이상 해야 하는 수도 있었다.

이렇게 하면 정상적으로 사용할 수 있게 된다.

© TA Instruments Korea – Waters LLC. MMK0001-1 Tel. 02-3415-1500, Fax. 02-3415-1515
Contact to ; http://www.tainstruments.co.kr/contactus.asp