

제 100 회 박사학위논문
지도교수 김 종 민

나노버블의 생성 및 응용에 관한 연구

**A Study on Nanobubble Generation
and its Applications**

중앙대학교 대학원
기계공학과 설계/생산 전공
오 승 훈
2017년 02월

나노버블의 생성 및 응용에 관한 연구

**A Study on Nanobubble Generation
and its Applications**

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2017년 02월

중앙대학교 대학원
기계공학과 설계/생산 전공
오 승 훈

오승훈의 박사학위 논문으로 인정함

심사위원장 _____ ①

심 사 위 원 _____ ①

중앙대학교 대학원

2017년 02월

목 차

목차.....	i
List of Figures.....	v
List of Tables.....	x
Nomenclature.....	xii
제 1 장 서론.....	1
1.1 연구 배경 및 목적.....	1
1.2 연구 동향.....	10
1.2.1 나노버블 생성 기법.....	10
1.2.2 세포 배양 배지.....	16
1.2.3 친환경 연료.....	18
1.3 연구 내용 및 방법.....	21
제 2 장 나노버블 생성 기법.....	25
2.1 서론.....	25
2.2 실험 방법.....	26
2.2.1 실험 재료.....	26
2.2.2 입도 분석.....	26
2.3 감압을 이용한 나노버블 생성.....	30
2.3.1 정의.....	30
2.3.2 나노버블 생성 원리.....	30
2.3.3 나노버블 생성 결과.....	34
2.4 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성.....	38

2.4.1	정의.....	38
2.4.2	나노버블 생성 원리.....	38
2.4.3	나노버블 생성 결과.....	42
2.5	기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성.....	46
2.5.1	정의.....	46
2.5.2	나노버블 생성 원리.....	46
2.5.3	나노버블 생성 결과.....	52
2.6	요약.....	55
제 3 장	나노버블의 생성 및 안정성.....	58
3.1	서론.....	58
3.2	실험 방법.....	59
3.2.1	실험 재료.....	59
3.2.2	나노버블 생성.....	59
3.2.3	입도 분석.....	60
3.2.4	제타전위 측정.....	60
3.3	결과 및 고찰.....	66
3.3.1	나노버블 생성.....	66
3.3.2	나노버블의 안정성.....	76
3.4	요약.....	97
제 4 장	나노버블의 열적 안정성.....	101
4.1	서론.....	101
4.2	실험 방법.....	102

4.2.1 실험 재료.....	102
4.2.2 증류수 내 나노버블 생성.....	102
4.2.3 입도 분석.....	103
4.2.4 용존 산소 농도 측정.....	103
4.2.5 가열 실험.....	104
4.3 결과 및 고찰.....	106
4.3.1 증류수 내 나노버블 생성.....	106
4.3.2 나노버블의 열적 안정성.....	106
4.3.3 나노버블의 핵생성 안정성.....	111
4.4 요약.....	123
제 5 장 나노버블 혼합 배양 배지 및 이를 이용한 세포 배양.....	126
5.1 서론.....	126
5.2 실험 방법.....	128
5.2.1 실험 재료.....	128
5.2.2 증류수 내 나노버블 생성.....	128
5.2.3 입도 분석.....	128
5.2.4 세포 배양.....	129
5.3 결과 및 고찰.....	131
5.3.1 증류수 내 나노버블 생성.....	131
5.3.2 세포 배양.....	133
5.4 요약.....	142

제 6 장 나노버블 혼합 연료 및 이를 이용한 연소 시험.....	144
6.1 서론.....	144
6.2 실험 방법.....	146
6.2.1 실험 재료.....	146
6.2.2 가솔린 내 나노버블 생성.....	146
6.2.3 입도 분석.....	146
6.2.4 엔진 시험.....	147
6.2.5 점도 및 표면 장력 측정.....	150
6.2.6 기체 크로마토그래피/질량 분석.....	151
6.3 결과 및 고찰.....	153
6.3.1 가솔린 내 나노버블 생성.....	153
6.3.2 나노버블 혼합 가솔린의 물성.....	155
6.3.3 엔진 시험.....	155
6.3.4 기체 크로마토그래피/질량 분석.....	161
6.4 요약.....	164
제 7 장 결론.....	167
참 고 문 헌.....	173
[부록 1].....	186
국 문 초 록.....	189
ABSTRACT.....	191

List of Figures

- Fig. 1.1 Definition of bubbles.
- Fig. 1.2 Flow chart of this dissertation.
- Fig. 2.1 The principle of nanoparticle tracking analysis principle.
- Fig. 2.2 Typical image produced by nanoparticle tracking analysis.
- Fig. 2.3 Solubility of hydrogen gas in water.
- Fig. 2.4 A schematic view of Decompression type nanobubble generator.
- Fig. 2.5 Nanobubbles fabricated by Decompression type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles just after nanobubble generation.
- Fig. 2.6 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.
- Fig. 2.7 A schematic view of Cavitation type nanobubble generator.
- Fig. 2.8 Boundary conditions for finite element simulation.
- Fig. 2.9 Finite element simulation result.
- Fig. 2.10 Nanobubbles fabricated by Cavitation type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.

- Fig. 2.11 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.
- Fig. 2.12 Sea waves.
- Fig. 2.13 Gas-liquid mixture generator for low-viscosity systems (a) bubble column (b) plate column (c) mechanically agitated vessel (d) in-line static mixer (e) surface aerator (f) ejector (g) plunging jet.
- Fig. 2.14 A schematic view of Gas-liquid mixing type nanobubble generator.
- Fig. 2.15 Nanobubbles fabricated by gas-liquid mixing type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.
- Fig. 2.16 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.
- Fig. 3.1 A schematic view of charged particle.
- Fig. 3.2 Images of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator, just after nanobubble generation.
- Fig. 3.3 Size distribution of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator, just after nanobubble generation.
- Fig. 3.4 Mean diameter and concentration of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator.

- Fig. 3.5 Nanobubbles fabricated in gasoline (a) images of fabricated nanobubbles (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.
- Fig. 3.6 Particle analysis results obtained from nanobubble gasoline blend (a) concentration (b) mean diameter, just after nanobubble generation.
- Fig. 3.7 Heterogeneous nucleation at the bottom of gasoline tank, just after decompression.
- Fig. 3.8 Images of nanobubbles fabricated by decompression type generator (a) just after fabrication (b) 2 days elapsed (b) 4 days elapsed (d) 7 days elapsed.
- Fig. 3.9 Images of nanobubbles fabricated by gas-liquid mixing type generator (a) just after fabrication (b) 2 days elapsed (b) 4 days elapsed (d) 7 days elapsed.
- Fig. 3.10 Size distributions of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator, versus time.
- Fig. 3.11 Time evolution of nanobubble concentration in water (a) bubbles fabricated by Decompression type generator (b) bubbles fabricated by Gas-liquid mixing type generator.
- Fig. 3.12 Time evolution of nanobubble diameter in water (a) bubbles fabricated by Decompression type generator (b) bubbles fabricated by Gas-liquid mixing type generator.
- Fig. 3.13 Measured ζ -potential of nanobubble water fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator.
- Fig. 3.14 Size distributions of nanobubbles in gasoline versus time.

- Fig. 3.15 Particle analysis results obtained from nanobubble gasoline blend (a) concentration (b) mean and mode diameter.
- Fig. 3.16 Measured ζ -potential of nanobubble gasoline blend.
- Fig. 4.1 A schematic view of experimental setup.
- Fig. 4.2 Particle analysis results of nanobubble water, just after fabrication.
- Fig. 4.3 Particle analysis results obtained from heated nanobubble water (a) concentration (b) mean and mode diameter.
- Fig. 4.4 (a) image of nanobubbles (b) size distribution of nanobubbles obtained from heated DI water (80 °C).
- Fig. 4.5 Particle analysis results obtained from heated DI water (a) concentration (b) mean and mode diameter.
- Fig. 4.6 Effect of repeated thermal treatment on (a) concentration of nanobubbles (b) DO concentration of DI water.
- Fig. 4.7 Effect of repeated thermal treatment on (a) mean diameter of nanobubbles (b) mode diameter of nanobubbles.
- Fig. 5.1 Particle analysis results of nanobubble water, just after fabrication.
- Fig. 5.2 Images of NIH3T3 cells, 0 % of nanobubble water (a) 0 day elapsed (b) 1 day elapsed (c) 2 days elapsed (d) 3 days elapsed.

- Fig. 5.3 Images of NIH3T3 cells, 20 % of nanobubble water (a) 0 day elapsed (b) 1 day elapsed (c) 2 days elapsed (d) 3 days elapsed.
- Fig. 5.4 Normalized growth rate of NIH3T3 cell.
- Fig. 5.5 Normalized growth rate of MC3T3 cell.
- Fig. 6.1 A schematic diagram of experimental apparatus.
- Fig. 6.2 Particle analysis result of nanobubble gasoline blend, just after fabrication.
- Fig. 6.3 Engine brake power, with variation of engine loads.
- Fig. 6.4 Brake specific fuel consumption, with variation of engine loads.
- Fig. 6.5 Gas chromatography/mass spectrometry analysis of conventional gasoline and nanobubble gasoline blend.

List of Tables

- Table 1.1 Nanobubble fabrication methods.
- Table 2.1 Material properties used in finite element simulation.
- Table 2.2 Particles analysis results, just after nanobubble generation.
- Table 3.1 The relationship between ζ -potential and qualitative stability of the solution.
- Table 3.2 Properties for ζ -potential measurement.
- Table 3.3 Stability of nanobubbles in water.
- Table 3.4 Stability of nanobubbles in gasoline.
- Table 4.1 Experimental cases.
- Table 4.2 Particle analysis results obtained from heated DI water.
- Table 4.3 The relationship between heat treatment and nanobubble diameter.
- Table 5.1 Sterilization of nanobubble water.

Table 5.2 Experimental cases.

Table 5.3 Normalized growth rate of NIH3T3 cell.

Table 5.4 Normalized growth rate of MC3T3 cell.

Table 6.1 Specifications of the test engine.

Table 6.2 Properties of nanobubble gasoline blend and conventional gasoline.

Table 6.3 Engine brake power.

Table 6.4 Brake specific fuel consumption.

Nomenclature

Symbols

V_{bubble}	Rise velocity of bubble
r	Radius of bubble
$\Delta\rho$	Difference in density between bubble and surrounding fluid
g	Gravitational acceleration
η	Fluid viscosity
P_{bubble}	Internal pressure of bubble
$P_{ambient}$	Ambient pressure
σ	Surface tension
d	Diameter of bubble
D_t	Diffusion coefficient of nanoparticle
K_B	Boltzmann constant
T	(Absolute) temperature
X_I	Mole fraction solubility
C	Solubility of the gas in the solution
P_{gas}	Partial pressure of the gas over the solution
N	Summation of the number of nanobubbles

Q	Flow rate
ρ	Fluid density
v	Fluid velocity
h	Height
U_E	Electrophoretic mobility
ε	Dielectric constant
ζ	ζ -potential
H	Henry's law constant
d_0	Initial diameter of bubble
S	Solubility
γ	Interfacial tension
V_m	Molar volume of suspended particle
$N_{experimental}$	Cell number obtained from experimental group
$N_{control}$	Cell number obtained from control group
F	Force required to raise the ring
r_{ring}	Radius of the Du Noüy ring

제 1 장 서론

1.1 연구 배경 및 목적

직경이 1 mm 미만인 버블 (bubble)들이 일으키는 놀라운 현상들이 발표됨에 따라, 버블의 생성 및 응용에 관한 연구들이 활발하게 이루어지고 있다. 일반적으로 1~2 mm 의 직경을 갖는 버블을 미세버블 (fine bubble)이라고 부르지만, 직경이 1 mm 이하인 버블은 크기에 따라 마이크로버블 (microbubble, 1~999 μm)과 나노버블 (nanobubble, 1~999 nm)로 세분화하여 구분되어 있다 [1]. 그러나 나노버블이 마이크로버블 및 미세버블과 구분될 수 있는 가장 큰 차이점은 긴 수명이다. 직경에 따른 버블들의 거동을 Fig. 1.1 에 나타내었으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 직경이 1 mm 이상인 버블은 큰 부력에 의해 빠르게 수면으로 부상해 사라진다. 마이크로버블 역시 부상해 사라지지만, 직경이 수~수십 μm 인 상대적으로 작은 마이크로버블은 자기가압 효과에 의해 점점 버블 내 기체를 잃으며 수축하여 사라지기도 한다. 그러나 나노버블의 경우, 앞서 언급한 버블들과 다르게 부상에 의해 사라지지 않고 액체 내에 오랫동안 존재한다.

버블의 부상 속도는 Stokes 의 법칙 (Stokes's law)에 따라 식 (1.1)과 같이 정의된다 [2]. 아래에 나타낸 공식에서 볼 수 있듯이 버블 부상 속도, V_{bubble} 는

버블 반지름, r 의 제곱에 비례하므로 버블의 크기가 작아질수록 기하급수적으로 작아진다.

$$V_{bubble} = \frac{2\Delta\rho g}{9\eta} r^2 \quad (1.1)$$

여기에서 $\Delta\rho$ 는 버블과 버블 주변 액체의 밀도 차이, g 는 중력 가속도 그리고 η 는 액체의 점성 계수를 나타낸다.

특히 직경이 $5\ \mu\text{m}$ 이하인 버블의 부력은 액체 내에 존재하는 어떠한 흐름 (예: 대류)들보다 작기 때문에, 실질적으로 존재하지 않는다고 볼 수 있다. 따라서 나노버블은 수면으로 부상해서 사라지지 않는다. 또한 나노버블은 쉽게 녹지 않으므로 마이크로버블 및 미세버블과 차별되는 긴 수명을 갖게 된다.

나노버블은 상기 언급한 기타 버블과 차별되는 긴 수명 외에도 나노버블 및 나노버블 용액이 일으키는 놀라운 현상으로 인해 큰 관심을 끌고 있으며, 대표적으로 동/식물의 성장을 촉진시키는 현상이 알려져 있다 [3]. K. Ebina et al. [3]은 상용 나노버블 생성기를 통해 생성한 나노버블 수 (nanobubble water)를 이용해 상추 (*Brassica campestris*), 은어 (sweetfish), 무지개송어 (rainbow trout), 쥐 (DBA1/J mice)를 각각 4, 3, 6, 12 주간 성장시키고, 성장 속도를 조사했다. 저자들은 나노버블 수를 이용해 수경 재배한 상추가 그렇지 않은 상추에 비해 크고 잎이 많았음을 보고했다. 또한 은어, 무지개송어 및 쥐에서도 유사한

현상이 나타났으며, 나노버블 수를 이용해 성장시킨 은어, 무지개송어 및 쥐는 그렇지 않은 쥐에 비해 체중이 더 크게 증가했음을 보여주었다. 저자들은 나노버블 수가 동/식물의 성장을 촉진시키는 원인을 정확하게 파악하지 못했지만, 나노버블 수는 생명체의 성장을 촉진시키는 것이 확실하다고 결론지었다.

이 외에도 나노버블은 수질 정화 [4], 초음파 반사 [5], 약물 전달 [6], 세척 [7] 등을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있으며, 나노버블의 잠재적 응용 분야를 밝히기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 이에, 2014, 2015년에는 각각 나노버블의 계면 특성을 이용한 부선법 (flotation)으로의 응용 [8]과 수소 나노버블을 이용한 항산화 효과 향상 [9]에 관한 연구 결과가 발표되어 관련 분야가 새롭게 발굴되었다.

그러나 나노버블의 응용 분야와 다르게 나노버블의 존재 및 안정성은 여전히 논란이 되고 있으며, 이는 나노버블의 내압이 이론 및 실험적으로 명확하게 밝혀지지 않은 것에 기인한다. 일반적으로 버블의 내압, P_{bubble} 은 식 (1.2)에 나타낸 Young-Laplace 공식 (Young-Laplace equation)에 의해 계산될 수 있다.

$$P_{bubble} = P_{ambient} + \frac{4\sigma}{d} \quad (1.2)$$

여기에서 $P_{ambient}$ 는 버블 외부 압력, σ 는 표면 장력 그리고 d 는 버블의 직경을 나타낸다.

Young-Laplace 공식에 따르면 버블의 내압과 외부 압력의 차이는 버블 직경에 반비례하며, 이로부터 버블의 크기가 작을수록 큰 내압을 갖게 될 것임을 알 수 있다. 또한 직경이 1~999 nm 인 나노버블의 내압은 292101.33~393.62 kPa 로 계산된다 ($\sigma = 0.073$ N/m 사용). 계산된 압력은 대기압에 비해 최소 3.88 배 이상 크므로, Young-Laplace 공식에 의해 나노버블은 안정하게 존재하지 못하고 터져야 함을 알 수 있다. 그러나 Hemmingsen [10]에 따르면, 표면 장력은 계면의 곡률 (interface curvature)과 나노크기에서의 내부 기체 압력에 매우 큰 영향을 받기 때문에 Young-Laplace 공식을 통해 나노버블의 내압을 예측하는 것은 적절하지 못하다고 밝혀진 바 있다. 더하여 Tolman [11]은 액적의 표면 장력을 이론적으로 계산하고 크기가 작을 경우 표면 장력은 상당히 감소한다고 보고한 바 있다. 바꾸어 말해 표면 장력은 기-액 계면의 곡률에 의존한다는 것이다. 결과적으로 나노버블의 계면에서 나타나는 실질적인 표면 장력은 곡률을 고려하지 않은 표면 장력에 비해 작을 것이며, 이로 인해 나노버블 내압 역시 기존에 예측한 값보다 작을 것이라고 말할 수 있다. 이 외에도 Nagayama et al. [12]은 분자 시뮬레이션 (molecular simulation) 결과를 통해 나노버블의 내부에는 매우 적은 수의 기체 분자들이 존재하며 나노버블의 내압은 Young-Laplace 공식에 의해 계산되는 것보다 크게 작을 것이라고 보고했다.

그러나 상기 연구 결과들과 다르게, Matsumoto 와 Tanaka [13]는 분자동역학 시뮬레이션 (molecular dynamics simulation)을 이용해 표면 장력은 버블의 크기에 의존하지 않고 거의 일정함을 밝혔다. 따라서 저자들은 나노버블이 Young-Laplace 공식을 만족하며 존재하기 위해서는 액체가 큰 진공 상태에 놓이거나 높은 인장 응력을 받고 있어야만 한다고 결론지었다. 그러므로 상기 연구 결과에 따르면, 나노버블은 상압 조건에서 평형 상태에 이르지 못함을 알 수 있다.

앞서 나노버블의 안정성을 설명할 수 있는 이론에 관한 학술적 합의가 이루어지지 않음을 나타내는 대표적인 연구 결과들을 확인했다. 더하여 언급한 논란은 나노버블 내 기체 충전 유/무가 명확하게 밝혀지지 않은 것에도 기인한다. 최근 들어, 나노입자 추적 분석 (nanoparticles tracking analysis) 기법이 개발되면서 액체 내에 분산된 나노입자의 개체수를 정량적으로 측정할 수 있게 되었으며, 나노입자 추적 분석 기법을 이용한 관련 연구 결과들에 따르면, 일반적으로 생성되는 나노버블의 개체수는 2.0×10^8 particles/ml 미만이다 [3, 14, 15]. 나노버블의 작은 크기를 고려했을 때, 2.0×10^8 particles/ml 수준의 나노버블 (1~999 nm)이 액체에서 차지하는 부피비는 $8.38 \times 10^{-11} \sim 8.35 \times 10^{-2}$ vol%로 극히 작다. 따라서 관련 문제를 해결하기 위해서는 나노버블의 부피비와 잡음비 (signal to noise ratio)를 증가시킬 수 있는 고농도 나노버블 용액의 생성 기법이 필요함을 알 수 있다. 이에 더하여 나노버블의 응용 측면에서도 고농도 나노버블 용액 생성 기법의 필요성이 대두되고 있다. 예를 들어, 앞서 언급한 부선법에서는 나노버블의 표면에 대상 물질을

부착시켜 제거하는 기법으로써 나노버블의 개체수가 많을수록 더욱 좋은 효과를 획득할 수 있다.

또한 나노버블이 이용가능한 응용 분야들 중 일부는 나노버블을 적용되는 과정 중에 온도의 상승이 동반된다. 영상의학 분야 (나노버블의 초음파 반사를 이용한 조영제)에서는 나노버블이 체내로 주입되어 나노버블 주변 매질의 온도가 상승하며, 세정 분야 (나노버블의 음전하로 대전된 표면을 이용한 이물질 제거)에서는 온수 세정 공정에 의해 나노버블 주변 매질의 온도가 상승한다. 따라서 이러한 나노버블의 가능성을 완전하게 이용하기 위해서는 온도 변화에 따른 나노버블 개체수 및 직경의 변화에 대한 이해가 필요하다.

한편 줄기세포 치료제 및 바이오 의약품 시장의 고성장으로 인해 세포 배양 배지의 필요성이 증가하고 있는 추세이며, 가장 많이 사용되고 있는 우태 혈청의 공급이 요구되고 있다. 그러나 우리나라의 경우, 광우병 파동으로 인해 우태 혈청의 공급이 제한되어 가격이 폭등한 전례가 있으며, 국내에서 이루어지는 생산판매가 전무하여 수입금지 조치가 내려지면 대처할 수 있는 방안이 매우 미흡하다. 따라서 우태 혈청을 대체하거나 사용량을 줄일 수 있는 기법의 연구개발이 요구되고 있다. 또한 우리나라는 세계 10 위권의 에너지 다소비 국가이며, 세계 5 위권의 석유 소비국이다. 따라서 한정된 화석 연료와 심각해지는 환경 문제에 대응하기 위해 대체 연료 및 내연 기관의 성능 향상에 관한 연구들이 수행되고 있으며, 수소와 연료를 함께 연소시켜 내연 기관의 성능을 향상시킨 사례들이 보고되고 있다. 그러나 수소는 에너지

밀도가 낮고 수소 관련 사회 기반 시설이 미비되어 있으며 내연 기관의 주요 연료로 사용되기에는 비싸다는 문제가 있어 추가적인 연구개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는, 나노버블 용액 내 나노버블의 개체수를 증가시키고 낮은 잡음비를 개선하기 위해, 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용해 나노버블이 생성가능한 단위 공정을 확립하고, 이를 임의의 분위기 하에서 소정의 시간 동안 반복함으로써 나노버블의 개체수가 지속적으로 증가될 수 있는 고농도 나노버블 용액의 생성 기법을 개발한다. 또한 언급한 3 가지 기법을 통해 생성된 나노버블의 입도 특성 및 안정성 (수명)과 적용가능한 용매를 비교함으로써 이어지는 연구에 가장 적합한 나노버블 생성 기법을 선정한다.

나노버블의 열적 특성에 관한 연구에서는 나노버블 용액과 증류수를 이용한 가열 및 냉각 실험을 수행함으로써 나노버블의 열적 안정성과 나노버블 핵생성에 관한 현상을 규명하고, 나노버블의 동/식물 성장 촉진 현상, 나노버블 내 수소 기체 및 큰 비표면적을 이용한 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료에 관한 연구를 수행한다. 관련 연구에서는 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료 제조하고, 이를 이용한 세포 배양 실험 및 연소 시험을 통해 나노버블이 세포 증식 (섬유아 세포, 조골 세포)과 연소 특성 (출력, 연료소비율)에 미치는 영향을 조사함으로써 나노버블의 공학적 유용성을 확대한다.

본 논문의 구성을 Fig. 1.2의 순서도 (flow chart)에 나타내었다.

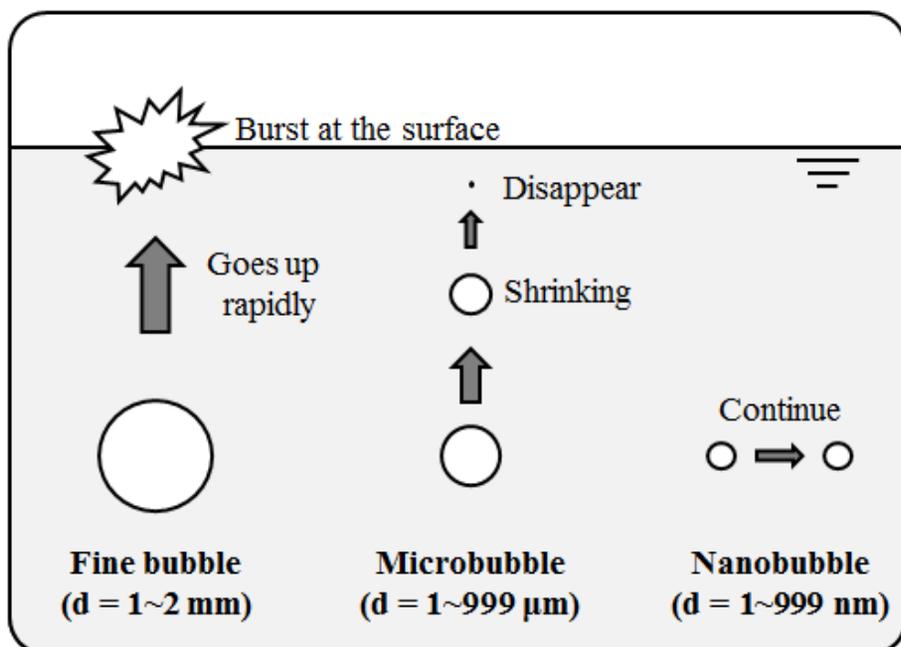


Fig. 1.1 Definition of bubbles.

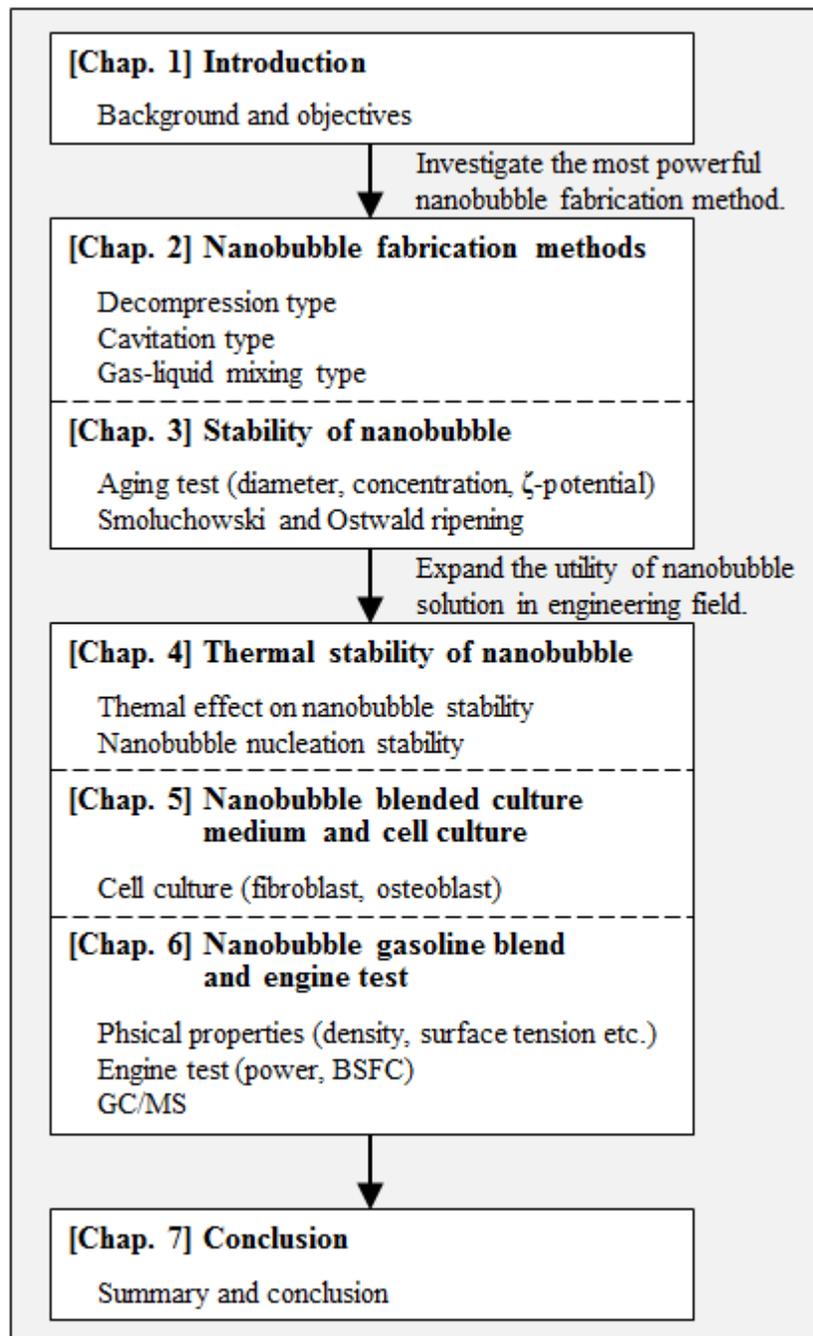


Fig. 1.2 Flow chart of this dissertation.

1.2 연구 동향

나노버블 관련 연구는 2000 년대에 이르러 본격적으로 시작되었으며 [16], 나노버블에 관한 가장 활발한 연구가 끊임없이 이루어지고 있는 분야는 의료 분야이다.

의료 분야에서는 나노버블이 초음파를 반사하는 특성을 이용한 초음파 진단용 조영제 및 나노버블에 약물을 충전하고 초음파를 인가해 터트림으로써 지정된 위치에 약물을 전달하는 것에 관한 연구가 이루어지고 있다. 특히 나노버블이 조영제로 활용될 경우, 초음파 반사 특성이 나노버블의 크기 분포에 의존하는 것으로 밝혀졌으며, 이 때문에 균일한 크기를 갖는 나노버블을 생성하기 위한 기법에 관한 연구 역시 진행되어 오고 있다.

이 외에도 나노버블의 응용 분야를 밝히기 위한 연구 결과들이 꾸준히 발표되고 있으며, 가장 최근에는 나노버블을 이용한 부선법 [8]과 나노버블의 항산화성 향상 효과 [9]에 관한 내용이 발표되었다.

이렇듯 나노버블은 2000 년 이래로 꾸준한 연구가 이루어지고 있으며, 이어지는 1~3 항에서는 나노버블 생성 기법, 나노버블을 이용한 세포 배양 배지 및 친환경 연료에 관한 연구 동향을 서술할 것이다.

1.2.1 나노버블 생성 기법

근래에는 소정의 목적으로 나노버블이 혼합된 나노버블 수를 생성하고 있으며, 생성된 나노버블 수는 주로 촉사, 공장 등에서 나오는 오폐수를

정화하는 공정에서 사용되거나 가공된 제작물 표면에 붙은 오염물을 제거하기 위한 용도로 사용되고 있다 [17, 18]. 이러한 나노버블 수는 동/식물의 신진대사를 활성화하는 것으로 알려졌으며, 특히 수소 나노버블 수의 경우, 항산화 효과를 향상시킬 수 있는 것으로 발표된 관계로 가정이나 회사에서 쓰이는 정수기에도 언급한 나노버블 수를 적용하거나 적용을 검토하는 경우가 늘어나고 있다 [3, 9].

상기와 같은 이유로 물 속에 나노버블을 제조하기 위한 다양한 기법 및 장치들이 개발되었는데, 대표적으로 Decompression type, Capillary type, Static mixer type, Rotational flow type, Cavitation type 으로 구분할 수 있다 [19-22].

Decompression type 나노버블 생성 기법은 기체의 용해도가 온도와 압력에 의존하는 것을 이용한 나노버블 생성 기법이다. 기체는 온도가 낮거나 압력이 높을 때, 용해도가 높아져 액체 속에 많이 녹을 수 있는 반면, 온도가 높거나 압력이 낮을 경우, 용해도가 낮아져 액체 속에 녹아 있기 힘든 상태가 된다. 따라서 낮은 온도 또는 높은 압력을 이용해 기체로 과포화된 용액을 만든 뒤, 급격한 속도로 가열하거나 압력을 낮춤으로써, 핵생성 (nucleation)을 일으켜 나노버블을 생성할 수 있다. Najafi et al. [20]은 8 °C 에서 공기로 과포화된 용액을 준비한 뒤, 이를 23 °C 로 급격하게 가열함으로써 평균 직경이 290 nm 인 나노버블을 생성한 바 있다.

Capillary type 나노버블 생성 기법은 다공성 멤브레인에 고압의 기체를 주입함으로써 다공성 멤브레인의 표면에서 버블의 성장 및 탈착을 일으켜 나노버블을 생성하는 기법이다. Kukijaki 와 Goto [21]는 Shirasu-porous-glass

(SPG) 멤브레인을 이용해 평균 직경이 360~720 nm 인 나노버블을 생성했으며, 다공성 멤브레인의 평균 pore 직경에 비해 8.6 배 큰 나노버블이 생성됨을 보고했다.

Static mixer type 및 Rotational flow type 나노버블 생성 기법은 앞서 언급한 두 가지 기법과 다르게 기-액 혼합물을 이용해 나노버블을 생성한다는 큰 차이점이 있다. 주입된 기-액 혼합물의 기포들은 static mixer 또는 유체 내 전단력에 의해 잘게 부수어지며, 결과적으로 나노버블이 생성된다. Static mixer type 생성 기법은 이젝터와 같은 기구를 이용해 기체를 별도로 주입하는 기법인 반면, Rotational flow type 생성 기법은 회전하는 액체의 중심부 압력이 원심력에 의해 낮아지는 것을 이용해 공기를 자동 흡기하는 기법이다.

마지막으로 Cavitation type 나노버블 생성 기법은 액체에 초음파를 인가해 나노버블을 생성하는 기법이다. 액체에 초음파가 가해질 경우, 부분적으로 매질의 압력이 낮아지므로 액체가 기화되거나 용존되어 있던 기체가 방출되는 캐비테이션이 일어나는 과정에서 나노버블이 생성된다. Cho et al. [22]는 증류수에 초음파 (20 kHz, 200 W)를 인가해 평균 직경이 750 nm 인 나노버블을 생성하는데 성공한 바 있다. 초음파를 이용한 Cavitation type 나노버블 생성 기법이 널리 알려져 있지만, 캐비테이션은 오리피스 (orifice) 또는 벤츄리 (venturi)와 같은 병목부를 갖는 기구에서도 발생할 수 있다.

이와 같은 다양한 나노버블 생성 기법이 개발되어 있지만, 최근 들어, 나노버블 조영제의 성능 향상과 같은 목적을 달성하기 위해 균일한 크기를 갖는 나노버블을 생성하기 위한 기법이 연구되고 있다. 이를 위해 생성된

나노버블 용액에 물리적 필터링, 부상 (floatation), 원심력을 이용해 임의의 직경을 갖는 나노버블을 분리하는 추가적인 후처리를 가하고 있다 [23-26]. Oeffinger 와 Wheatley [26]은 초음파를 이용해 평균 직경이 1.10 μm 인 마이크로버블을 생성하고, 마이크로버블 용액을 300 rpm 으로 1, 3 분간 원심분리 (centrifugation)해서 평균 직경이 690, 450 nm 인 나노버블들만 분리했다. 그러나 이러한 분리 기법은 임의의 크기를 갖는 나노버블을 선택하는데 효과적이지만, 나노버블 생산량과 안정성을 저하시키고 샘플을 오염시키거나 재료 소모량을 키우는 단점이 있다 [27].

Table 1.1 Nanobubble fabrication methods.

Type	Mechanism
Decompression type	<p>- To generate nanobubbles, Decompression type method uses the dependency of gas solubility on temperature and pressure. It is already known as gas solubility is proportional/reversely proportional to temperature/pressure.</p> <p>- Prepared supersaturated solution is heated up rapidly or decompressed in short time. Consequently, nanobubble nucleation occurs.</p>
Capillary type	<p>- In this method, gas is injected into porous material at high pressure. Thus, nanobubble formation from a pore mainly consists of bubble growth and bubble detachment. Bubble detachment can be induced by buoyancy force or drag force.</p> <p>- Generally, diameter of fabricated nanobubble is 8.6 times larger than that of pore.</p>
Static mixer type	<p>- Nanobubble formation in this method consists of making helical two-phase flow (using a guide vane) and destruction of gas-liquid mixture (using projections).</p> <p>- Gas and liquid separated from gas-liquid mixture by helical flow, and projections placed at gas-liquid interface generate nanobubbles.</p>

<p>Rotational flow type</p>	<ul style="list-style-type: none"> - In this method, high speed swirl flow along the center line of the circular container is used. Strong circulating flow in device makes pressure drop and automatic inhalation of the gas. - Shear stress in the liquid brakes gas-liquid mixture and then micro and nanobubbles are formed. Also, vortex breakdown at discharge port is breaking theses bubbles into more smaller bubbles.
<p>Cavitation type</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Cavitation type methods usually uses acoustic cavitation for nanobubble generation. However, nanobubbles also can be fabricated at the bottleneck of orifice, venture and so on. - For example, at the bottleneck of orifice, cavitation occurs due to velocity increase and pressure drop.

1.2.2 세포 배양 배지

줄기세포 치료제 및 바이오 의약품 시장의 고성장으로 인해 세포 배양 배지의 필요성이 증가하고 있는 추세이며, 가장 많이 사용되고 있는 우태 혈청 (fetal bovine serum)의 공급이 요구되고 있다.

혈청은 세포 배양에 필요한 성장 인자, 호르몬, 세포를 자극하는 성분 등과 같은 여러 물질이 혼합된 복합 산물이며, 세포 배양실에서 기본 배양 배지에 첨가제로써 사용되고 있다. 또한 세포의 종류에 따라 다양한 혈청이 사용되고 있으나, 일반적으로 우태 혈청이 가장 널리 사용되고 있다. 언급한 우태 혈청은 임신 중인 소의 혈액으로부터 분리되는 혈청으로서, 바이오 기술 관련 실험의 기초적 단계에 속하는 동물세포 배양뿐만 아니라 최근 몇 년 동안 전 세계적으로 기술 속도가 점점 더 빨라지고 있는 백신, 단백질 의약품, 치료용 항체 등 개발에 사용되는 원료 물질이다.

그러나 바이오 의약품 제조에 사용되는 원료로는 각종 위해 물질로부터 오염되지 않은 물질을 사용하여야만 하는 약사법 제 31 조와 제 42 조에 의거해 최종 제품이 동물 유래성분을 함유하거나 제조 과정 중 동물 유래성분을 사용하는 경우에는 기원동물 및 사용부위를 기재해야 하며, 이와 동일하게, 우태 혈청과 같은 반추동물 (포유류 소목에 속하는 동물) 유래성분의 경우에는 광우병 (전염성 해면상뇌증) 감염을 방지하기 위한 원료 선택 또는 처리 방법 등을 기재하는 것과 같은 제한을 받는다. 이는 대상 생성물을 통해 광우병에 감염될 수 있는 문제점이 있어 안전이 충분히 보장되지 못하는 것에 기인한다.

우리나라의 경우, 광우병 파동으로 인해 우태 혈청의 공급이 제한되어 그 가격이 폭등한 전례가 있으며, 국내에서 이루어지는 생산판매는 전무하여 수입금지 조치가 내려지면 대처할 수 있는 방안이 현재로서는 매우 미흡한 상황이다. 따라서 우태 혈청을 대체할 수 있는 다른 혈청 또는 배양 배지 구성 성분의 개발에 대한 필요성이 크게 대두되고 있으며, 전 세계적으로 많은 연구자들이 우태 혈청을 대체할 수 있는 말 혈청 [28], 염소 혈청 [29, 30], 닭 혈청 [30], 인간 혈청 [31]를 연구하거나 무 혈청 또는 무 단백질 배양 배지 개발에 관한 연구 [32]를 수행하고 있다.

일례로 Frenke et al. [28]은 우태 혈청과 말 혈청의 섬유아 세포 배양 특성을 비교했으며, 우태 혈청을 사용한 경우, 말 혈청을 사용한 것에 비해 향상된 증식률 (proliferation rate), 배증 시간 (doubling time), 계대 수 (passage number)와 세포 분화 (cell differentiation)가 나타났음을 보고 했다. 더하여 말 혈청을 사용한 경우, 세포 변성 또는 cell granularity 징후가 나타남을 보여주었다. 또한 Nanda et al. [30]은 염소, 송아지, 닭에서 추출한 혈청을 이용해 인도 잉어 (*cirrhinus mrigala*)의 심장, 간, 신장과 같은 체외 배양 조직의 부착, 성장, 증식을 조사하였다. 이들의 연구 결과에 따르면, 세 가지 혈청 중 가장 높은 부착, 성장, 증식을 보인 것은 염소 혈청 (10 % 농도)과 갓 난 송아지 혈청 (농도 15 %)으로 나타났다. 그러나 닭 혈청 (15 % 농도)에서는 모든 배양 조직에 대한 가벼운 중독 현상이 발생했다. 저자들은 일상적인 물고기 세포 배양에서는 염소 혈청 (10 % 농도)이 갓 난 송아지 혈청만큼 효과적으로 사용될 수 있을 것이라고 결론지었다. 한편 Cánovas 와 Bird [31]은

내피 세포 (endothelial cell)와 암 세포 (cancer cell)를 증식시키는 것에 있어 인간 혈청은 우태 혈청만큼 효과적인 증식 결과를 이끌어낸다고 보고하였다. 그러나 인간 혈청은 우태 혈청에 비해 4~5 배 비싸다는 단점이 있으므로, 낮은 농도에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 결론지었다.

앞서 살펴본 대표적인 연구 사례들로부터, 현재까지 우태 혈청의 대체재를 개발하기 위한 연구는 진행 중이며, 우태 혈청의 사용량을 줄이면서도 세포 성장을 촉진시킬 수 있는 다른 배지 성분에 관한 연구가 필요함을 알 수 있다.

1.2.3 친환경 연료

우리나라는 세계 10 위권의 에너지 다소비 국가이며, 세계 5 위권의 석유 소비국이다. 또한 석유화학공정에 사용하는 에너지는 전체 산업의 25 % 이상으로 친환경 고효율 연료 제조 기술 개발이 에너지 확보 및 활용 측면에서 매우 중요하다.

최근 들어, 자동차의 연비개선을 위해 현대기아자동차는 2020 년까지 차량 연비를 높이는 “2020 연비향상 로드맵”을 2014 년 11 월 6 일 확정 발표하였으며, 전 세계적으로 차량의 경량화, 엔진의 고효율화, 자동차 온실가스 및 연비 기준안을 설정하고 있다. 또한 자동차에서 배출되는 대기 오염 물질을 줄이기 위해 자동차 배기 가스에 관한 규제가 선진국을 중심으로 지속적으로 강화되어 왔다. 이는 엔진, 후처리 장치 등 연소 관련 신기술의

도입과 발전을 가속화시켰으며, 이를 통해 기술의 친환경성과 고효율성을 요구했다.

또한 미래에는 친환경성과 고효율성을 달성하기 위해, 연료전지 자동차, 전기 자동차, 수소 자동차와 같은 차세대 자동차의 개발 및 상용화가 이루어질 것이며, 이 때문에 연료 측면에서도 큰 변화가 있을 것이라고 예측할 수 있다. 그러나 미세조류를 이용한 3세대 바이오연료, 수소 연료 전지, 전기 등을 동력으로 하는 기술이 가지는 재료의 한계, 높은 가격, 인프라 미비와 같은 각종 문제점들로 인해 개발 및 상용화가 지연되고 있다. 현실적인 방안으로써 바이오에탄올과 가솔린을 혼합한 연료가 떠오르고 있으며, 연료혼합의무화 제도 (신에너지 및 재생에너지 개발, 이용, 보급 촉진법, 신·재생에너지 연료 혼합의무화제도, 2015년 7월 31일 시행)가 도입되었으나 아직까지 바이오에탄올의 안정성 및 엔진 효율 저하 문제가 해결되지 않고 있다.

그러나 언급한 문제점들이 해결된다 하더라도 탈 화석 연료 기술의 개발 및 상용화는 근시일 내에 이루어지지 않을 것이므로 화석 연료의 사용은 당분간 꾸준히 유지될 것이다. 바꾸어 말해, 차세대 기술이 본격적으로 도입되기 이전에는 현재 널리 쓰이고 있는 휘발유와 경유가 가장 중요한 자동차 연료로서 사용될 것이며, 연료혼합의무화 제도에 의해 바이오 연료가 일부 사용될 것으로 예측할 수 있다.

따라서 한정된 화석 연료와 심각해지는 환경 문제에 대응하기 위해 내연 기관의 연소 및 배기 성능을 향상시키는 것이 중요한 화제가 되고 있으며,

최근 들어, 많은 연구자들은 화석 연료를 대체할 수 있는 친환경 연료 [33, 34]를 연구하거나 내연 기관의 성능을 향상시키는 연구 [35, 36]를 수행하고 있다. 동시에 수소가 내연 기관에 사용되는 화석 연료를 대체할 수 있는 친환경 연료로써 부상하고 있다 [37]. 수소는 CO₂, CO, HC 와 같은 유해 물질을 배출하지 않고, 점화에 필요한 에너지가 낮으며 가연성 및 확산 속도가 크기 때문이다 [38, 39].

일례로 Ganesh et al. [40]는 스파크 점화 (spark ignition) 가솔린 엔진에 수소를 주입하여 연소 특성을 조사하였다. 수소를 이용한 연소에서 나타난 최대 출력은 가솔린을 사용한 것에 비해 20 % 낮게 나타남을 보여주었다. 그러나 수소를 이용할 경우, 연료 소비율 (brake fuel consumption)이 감소하고 HC 가 거의 배출되지 않음을 보고하였으며, 이는 수소의 높은 발열량 및 열 효율에 기인한다.

더욱 실용적인 방법으로써 수소를 혼합한 디젤, 바이오디젤, 가솔린 및 알코올 연료를 이용한 연소 특성을 향상이 고려되고 있다 [41-44]. Ji et al. [43]은 수소 주입 시스템을 도입한 수소-가솔린 엔진을 제안하였으며, 이와 같은 방법을 통해 HC 와 CO 배출이 일반적인 가솔린 엔진에서 배출되는 것에 비해 각각 94.7, 99.5 % 감소됨을 보여주었다. 또한 수소의 빠른 화염 속도는 연소 안정성을 향상시키고 연소 지속 시간을 단축시킴으로써 수소-가솔린 엔진의 열 효율을 향상시킨다는 사실을 보고하였다. 또한 Ji 와 Wang [45]은 수소와 가솔린을 함께 주입하여 연소시킬 경우, 스파크 점화 가솔린 엔진의 제동 열 효율 (brake thermal efficiency)이 넓은 과잉 공기비 (excess air ratio,

1.0~1.7)에서 거의 일정하게 나타남을 보고하였다. 이들의 연구 결과에 따르면, 최대 제동 열 효율은 수소를 6 % 혼합했을 때 나타나며, 수소를 혼합하지 않은 연료에서 나타나는 제동 열 효율인 26.37 %에서 31.56 %로 상승한다.

더하여 Zhao et al. [46]은 수소-가솔린 혼합물을 사용한 스파크 점화 엔진의 입자 배출 (particulate emission)과 연소 성능을 연구하였으며, 5 %의 화학량론적 (stoichiometric mixture) 수소 혼합물이 전체 입자 배출 수와 전체 입자 배출 질량을 90 %까지 감소시킬 수 있다는 사실을 보고하였다. 또한 수소의 비율을 10 %로 높일 경우, 전체 입자 배출 질량의 감소량은 95 %로 증가함을 보여주었다.

앞서 언급한 연구 결과물들은 수소를 이용해 가솔린 엔진의 연료 소비율, 열 효율, 유해 물질 배출량이 감소시킬 수 있다는 사실을 보여주며, 이는 수소의 높은 발열량, 빠른 화염 속도, 큰 열 효율, 탄소 함유량 0 %에 기인한다. 이러한 사실에 의거해 수소가 내연 기관의 이상적인 대체재로 고려되고 있지만, 수소는 에너지 밀도가 낮고 수소 관련 사회 기반 시설이 적으며 내연 기관의 주요 연료로 사용되기에는 비싸다는 단점이 있어 관련 문제를 해결하기 위한 추가적인 연구개발이 필요한 실정이다.

1.3 연구 내용 및 방법

앞서 기술한 바와 같이, 2000 년대에 본격적인 연구가 시작된 나노버블의 연구 분야는 크게 나노버블의 생성과 생성된 나노버블의 응용으로 구분할 수

있다. 연구자들은 나노버블을 생성할 수 있는 새로운 생성 기법 및 균일한 크기 분포를 갖는 나노버블을 생성하기 위한 기법을 연구하는 한편, 나노버블이 응용될 수 있는 새로운 분야를 찾기 위한 노력을 지속해오고 있다.

그러나 다양한 나노버블 생성 기법이 밝혀졌음에도 불구하고, 아직까지 고농도 나노버블 생성 기법은 개발되지 않고 있다. 더하여 나노버블이 응용될 수 있는 잠재적 응용 분야가 끊임없이 발굴되고 있지만, 아직까지 세포 배양 및 친환경 연료에 관한 나노버블의 잠재력은 밝혀진 바 없다.

따라서 본 논문의 주요 내용은 크게 나노버블의 생성 기법과 생성된 나노버블의 특성 및 응용으로 구성된다. 더욱 자세하게는, 10.0×10^8 particles/ml 수준의 나노버블 개체수를 달성할 수 있는 나노버블 생성 기법 및 공정을 제안하고, 입도 분석, 시효 특성 평가, 제타 전위 측정을 통해 개발한 생성 기법 및 공정을 정량적으로 평가한다. 또한 나노버블 용액과 증류수를 이용한 가열 및 냉각 실험을 수행함으로써 나노버블의 열적 안정성과 나노버블 핵생성에 관한 현상을 규명하고, 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료 제조와 이를 이용한 세포 배양 실험 및 연소 시험을 통해 나노버블이 세포 증식 (섬유아 세포, 조골 세포)과 연소 특성 (출력, 연료소비율)에 미치는 영향을 조사함으로써 나노버블의 공학적 유용성을 조사한다.

이에 더하여 본 논문의 세부적인 연구 내용을 아래에 서술하였다.

2 장에서는 나노버블 용액을 생성하기 위한 기법 및 공정에 관한 내용을 다룬다. 본 연구를 통해 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블

생성 기법을 개발했으며, 이들 기법의 정의, 나노버블의 생성 원리, 생성된 나노버블의 입도 분석 결과를 서술한다.

3 장에서는 본 연구에서 개발한 나노버블 생성 기법의 성능을 평가한다. 이를 위해 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 증류수와 가솔린에 적용하고, 레이저를 이용한 가시화 기법을 통해 나노버블 생성 유/무를 판단한다. 이후, 시간 경과에 따른 입도 분석 및 제타 전위 측정을 수행함으로써 증류수와 연료 내에 생성된 나노버블의 안정성을 검토한다. 최종적으로, 용매별 나노버블 생성 유/무 및 생성된 나노버블의 안정성 측면에서 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법의 우위를 평가한다.

4 장에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수 내에 나노버블을 생성했으며, 나노버블 수를 가열하고 입도 분석함으로써 나노버블의 열에 대한 안정성을 조사했다. 또한 증류수에 대한 가열 및 가열 후 냉각 실험을 반복하고 입도 분석 및 용존 산소 농도를 측정함으로써 나노버블의 안정성과 생성 조건을 고찰했다.

5 장에서는 나노버블 혼합 배양 배지를 제조하고, 이를 이용한 세포 배양 연구에 관한 내용을 다룬다. 나노버블 혼합 배양 배지 제조에 앞서, 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 증류수에 나노버블을 생성했다. 이후,

생성된 나노버블 수를 상용 세포 배양 배지에 혼합하여 나노버블 혼합 세포 배양 배지를 제조했으며, 나노버블 수 혼합 비율 (0~20 %)과 세포 종류 (섬유아 세포, 조골 세포)에 따른 세포 배양 실험을 수행하고 세포 증식률을 조사했다.

6 장에서는 본 연구에서 제안하는 또 다른 응용 분야인 친환경 연료에 대한 내용을 서술한다. 나노버블을 이용한 친환경 연료에 관한 연구를 수행하기 위해, 고농도 나노버블이 생성된 연료를 제조하고 엔진을 이용한 연소 시험을 통해 나노버블 혼합 연료와 일반 연료의 연소 및 배기 특성을 조사했다. 또한 두 연료의 성분 분석 결과를 비교/분석하여 나노버블 혼합 연료에서 나타나는 연소 특성 변화의 원인을 고찰했다.

마지막으로, 7 장에서는 본 논문에서 서술한 나노버블의 생성 및 응용에 관한 결과 및 결론들을 정리 및 요약했다.

제 2 장 나노버블 생성 기법

2.1 서론

나노버블은 긴 수명, 넓은 표면적 등과 같은 특별한 물리화학적 특성이외에도 동/식물의 성장 촉진 [3], 수질 정화 [4], 초음파 반사 [5], 약물 전달 [6], 세척 [7], 부선법 [8], 항산화 효과 향상 [9] 등을 일으키는 것으로 밝혀져 전 세계적으로 큰 관심을 받고 있다. 따라서 액체 속에 나노버블을 제조하기 위한 다양한 기법 및 장치들이 개발되었으며, 대표적으로 Decompression type, Capillary type, Static mixer type, Rotational flow type, Cavitation type 으로 구분할 수 있다 [19-22].

한편 나노입자 추적 분석 기법이 개발되면서 액체 내에 분산된 나노입자의 개체수를 정량적으로 측정할 수 있게 되었으며, 나노입자 추적 분석 기법을 이용한 관련 연구 결과들에 따르면, 일반적으로 생성되는 나노버블의 개체수는 2.0×10^8 particles/ml 미만이다 [3, 14, 15]. 따라서 나노버블의 작은 부피비와 잡음비를 증가시킬 수 있는 고농도 나노버블 용액의 생성 기법이 필요하며, 나노버블의 응용 측면에서도 고농도 나노버블 용액 생성 기법의 요구되고 있다. 예를 들어, 앞서 언급한 부선법에서는 나노버블의 표면에 대상 물질을 부착시켜 제거하는 기법으로써 나노버블의 개체수가 많을수록 더욱 좋은 효과를 획득할 수 있다.

그러므로 본 연구에서는 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용해 나노버블이 생성가능한 단위 공정을 확립하고, 이를 임의의 분위기 하에서 소정의 시간 동안 반복함으로써 나노버블의 개체수가 지속적으로 증가될 수 있는 고농도 나노버블 용액의 생성 기법을 개발한다. 이를 위해 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 제안하고, 이들 기법의 정의, 나노버블의 생성 원리, 생성된 나노버블의 입도 분석 결과를 다룰 것이다.

2.2 실험 방법

2.2.1 실험 재료

본 연구에서는 나노버블을 생성하기 위해 증류수 (No. 119, HPLC grade, Duksan Pure Chemicals Co., Korea) 또는 증류수와 수소 기체 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)를 사용했다. 또한 상기 재료에 대한 추가적인 정화 작업을 수행하지 않고 제조사로부터 받은 그대로 사용했다.

2.2.2 입도 분석

일반적으로 나노버블의 입도 분석 (particle analysis)은 동적 광산란 (dynamic light scattering) 기법을 통해 이루어져 왔다. 동적 광산란 기법은 용액 내에 분산된 단백질, 폴리머, 미셀 (micelles), 탄수화물 (carbohydrates), 나노입자와 같은 극히 작은 입자의 크기 분포를 측정하는 기술이다. 따라서

측정 대상이 단분산계 (monodisperse)일 경우 한 입자군만 측정되는 반면, 다분산계 (polydisperse)일 경우, 다수의 입자군이 측정된다. 그러나 동적 관산란 기법은 입자 개체수에 관한 정량적인 결과를 제시하지 못한다는 큰 단점이 존재한다. 따라서 본 연구에서는 정량적인 개체수를 획득할 수 있는 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 입도 분석을 수행했다.

나노입자 추적 분석 기법은 액체 내에 분산된 입자를 가시화하여 분석하는 기법으로, 입자의 브라운 운동 (Brownian motion)에 기반하는 나노입자 측정 기술이다. 브라운 운동은 액체에 분산된 작은 입자의 불규칙한 운동을 일컬으며, 입자의 크기가 작을 경우, 무기물이든 유기물이든 관계없이 항상 나타나는 현상이다. 나노입자 추적 분석 기법에서는 Fig. 2.1 에 나타낸 바와 같이 브라운 운동을 하는 나노입자에 레이저를 조사해 입자의 산란을 일으킴으로써 가시화한 뒤, 그 영상을 녹화한다. 전형적인 영상 녹화 결과를 Fig. 2.2 에 나타내었으며, 그림에 나타낸 바와 같이 나노입자와 용매는 각각 흰색 점과 검은색 배경으로 구분되어 가시화된다.

이후, 녹화된 영상을 분석해 나노입자의 확산 계수, D_i 를 측정할 수 있으며, 최종적으로 측정된 확산 계수를 식 (2.1)에 나타낸 Stokes-Einstein 공식에 대입해 나노버블의 직경을 계산한다.

$$D_i = \frac{K_b T}{3\pi\eta d} \quad (2.1)$$

여기에서 K_B 는 Boltzmann 상수, T 는 절대 온도, η 는 점도, 그리고 d 는 나노버블의 직경을 나타낸다.

마지막으로 본 연구에서는 증류수에 대한 나노버블 생성을 수행했으므로, 405 nm 레이저를 장착한 나노입자 추적 분석 장치 (NanoSight LM10-HSBFT14, Quantum Design Korea, Korea)를 이용해 입도 분석을 수행하였다.

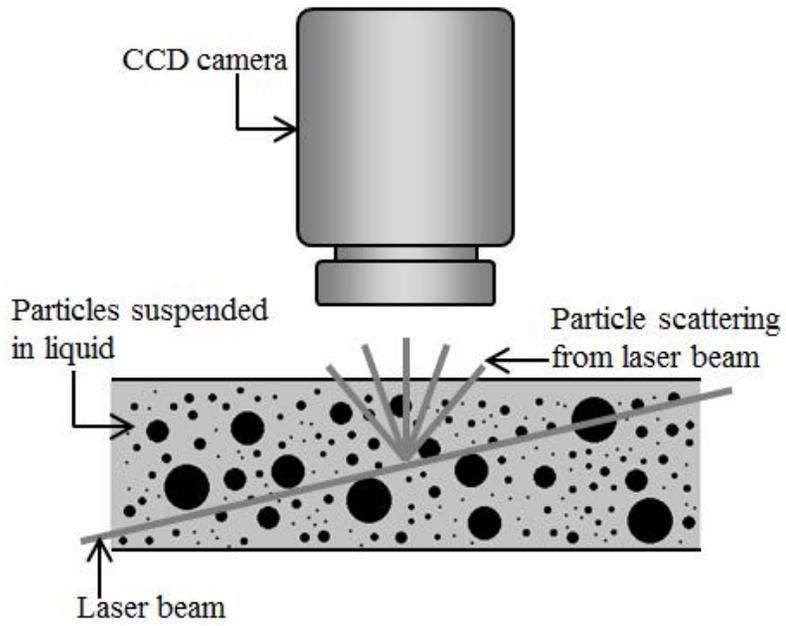


Fig. 2.1 The principle of nanoparticle tracking analysis principle.

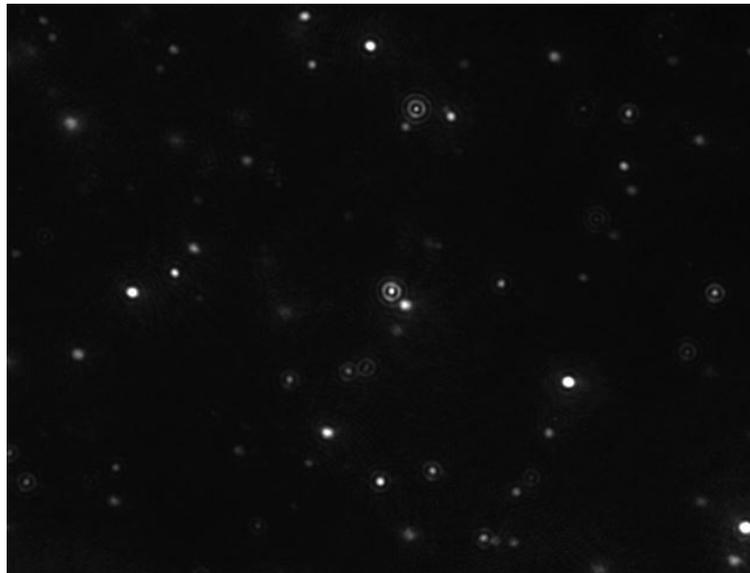


Fig. 2.2 Typical image produced by nanoparticle tracking analysis.

2.3 감압을 이용한 나노버블 생성

2.3.1 정의

감압을 이용한 나노버블 생성은 압력과 온도에 의존하는 기체 용해도의 성질에 기반한 간단하고 신뢰성 있는 기법이며, Decompression type 나노버블 생성 기법에 속한다.

2.3.2 나노버블 생성 원리

감압을 이용한 나노버블 생성은 기체가 액체에 녹는 현상을 이용한 나노버블 생성 기법이다. 온도 및 압력과 액체에 대한 기체 용해도의 관계는 다년간 연구되어 왔으며, 몇몇 경험식들 (empirical equations)이 개발되어 쓰이고 있다 [47-50].

온도에 대한 기체 용해도는 식 (2.2)와 같이 나타낼 수 있다 [50].

$$\ln X_1 = A + B/T^* + C \ln T^* \quad (2.2)$$

$$T^* = \frac{T}{100} \quad (2.3)$$

여기에서 X_1 은 몰 분률 용해도 (mole fraction solubility), A , B , C 는 기체 종류에 따라 다르게 주어지는 상수, T 는 절대 온도를 나타낸다.

수소의 경우, A , B , C 는 각각 -48.1611 , 55.2845 , 16.8893 이며, 상기 상수는 $278.15\sim 303.15$ K 에서 적용할 수 있다.

식 (2.2)에 상수들을 대입하여 주어진 온도 구간에 대한 용해도를 그리면 Fig. 2.3 과 같이 나타난다. 나타낸 그림으로부터 $0\sim 80$ °C 범위에서 기체 용해도는 포물선형으로 나타나지만 상온 근방에서는 온도에 반비례하는 관계를 보임을 알 수 있다.

그러나 본 연구에서 제안하는 감압을 이용한 나노버블 생성은 압력에 대한 기체 용해도에 기반하며 소정의 압력으로 가압된 환경에서 디퓨저를 이용해 수소 기체를 주입함으로써 수로 기체로 과포화된 증류수를 제조한 뒤, 수 초 내에 상압으로 감압시켜 나노버블을 생성하는 기법이다. 압력에 대한 기체 용해도는 Henry 의 법칙 (Henry's law)을 통해 살펴볼 수 있으며 (식 (2.4)), Henry 의 법칙은 기체의 용해도가 분압 (partial pressure)에 비례함을 보여준다.

$$C = kP_{gas} \quad (2.4)$$

여기에서 C 는 용액 내 기체 용해도, k 는 기체 종류에 따라 다르게 주어지는 상수, P_{gas} 는 용액 밖의 기체 분압을 나타내며, 식 (2.4)는 온도가 일정할 때 성립한다.

이와 비슷하게 Kubota et al. [51] 및 Okada 와 Akagi [52]은 계면활성제 용액을 가압 및 감압하여 작은 버블들을 생성하고, 생성된 버블의 전기영동 이동도 (electrophoretic mobility)를 측정하는 바 있다. Kubota et al. [51]은 0.5 MPa 의

압력에서 증류수에 공기를 녹였으며, 이후 대기압 수준으로 압력을 낮추어 마이크로버블이 생성된 탁한 용액을 생성했다.

이와 같은 가압 및 감압을 이용한 생성 기법의 감압 과정에서는 균질 핵생성 (homogeneous nucleation)이 발생한다. 이후 증류수 내에 녹아있던 기체 분자가 생성된 핵으로 확산되며, 결과적으로 핵이 성장하여 나노버블이 된다. 일례로 탄산 음료의 마개를 따거나 음료를 잔에 따를 때 다양한 크기를 갖는 많은 버블이 생성되는 것을 볼 수 있으며, 이는 마개를 따거나 음료를 잔에 따를 때 상압으로 낮아진 환경에 의해 일어나는 균질 핵생성에 의한 것이다.

따라서 본 연구에서 제안하는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법에서는 24 시간 동안 주기적으로 가압 및 감압 환경을 조성했으며, 용액을 기체로 과포화된 상태로 유지시켜 나노버블을 생성한다. 생성 장치 구성의 모식도를 Fig. 2.4 에 나타냈으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 생성 장치는 증류수를 채운 압력 탱크, 압력 탱크로 수소 기체를 주입하기 위한 수소 기체 탱크와 기체 조절기 (gas regulator), 증류수에 잠겨 수소 기체를 공급하는 다공성 산기 장치 (diffuser)로 구성된다.

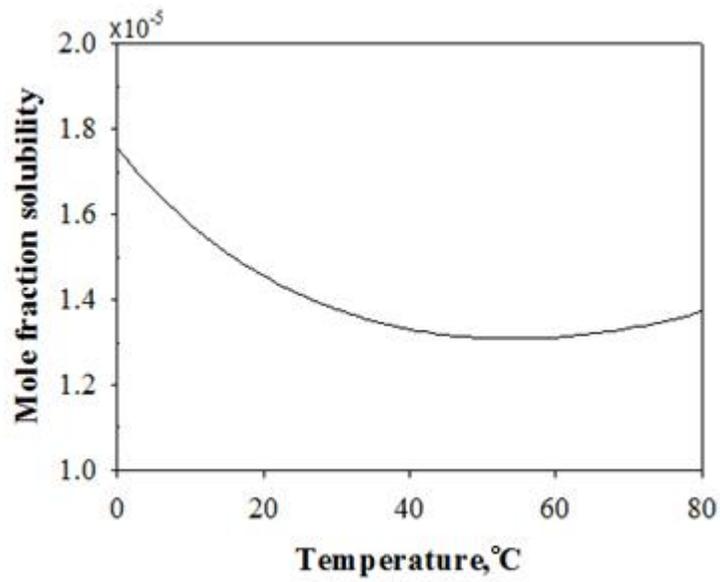


Fig. 2.3 Solubility of hydrogen gas in water.

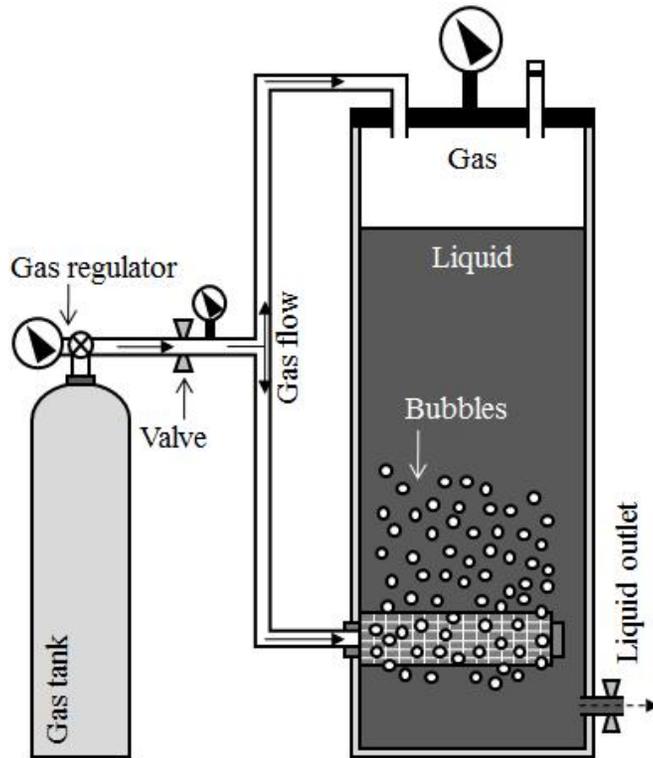


Fig. 2.4 A schematic view of Decompression type nanobubble generator.

2.3.3 나노버블 생성 결과

생성 직후에 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 획득한 생성된 나노버블의 이미지를 Fig. 2.5(a)에 나타내었다. Fig. 2.5(a)에서 볼 수 있는 흰색 점은 레이저에 의해 가시화된 나노버블을 나타내는 반면, 검은색 배경은 증류수를 나타낸다. 또한 별도의 그림으로 나타내지 않았지만, 나노버블을 생성하지 않은 증류수에서는 아무런 입자도 촬영되지 않고 검은색 배경만 확인할 수 있었다 (결과 미도시). 이와 같은 결과는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법으로부터 나노버블이 확실하게 생성되었음을 의미한다.

생성된 나노버블의 크기 분포를 Fig. 2.5(b)에 나타내었으며, 단일 피크 (peak)를 갖는 크기 분포가 나타남을 확인할 수 있다. 이를 통해 직경의 최빈값 (mode diameter)이 92.67 ± 3.79 nm 인 거의 균일한 크기의 나노버블이 생성되었음을 확인할 수 있다. 또한 획득한 크기 분포를 통해 생성된 나노버블의 개체수, N 과 평균 직경, d_{mean} 을 계산할 수 있으며, 관련 공식을 각각 식 (2.5)와 (2.6)에 나타내었다.

$$N = \sum n_i \quad (2.5)$$

$$d_{mean} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i}{N} \quad (2.6)$$
$$= \frac{n_1}{N} d_1 + \frac{n_2}{N} d_2 + \dots + \frac{n_N}{N} d_N$$

여기에서 n_i 는 직경이 d_i 인 나노버블의 개체수, N 은 모든 나노버블 개체수의 합을 나타낸다. 따라서 생성된 나노버블의 평균 직경은 모든 나노버블의 직경의 합을 나노버블의 전체 개체수로 나눈 것임을 알 수 있다.

생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경은 각각 $2.71 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 와 120.67 ± 14.57 nm 로 계산되었으며, 이를 Fig. 2.6 에 나타내었다.

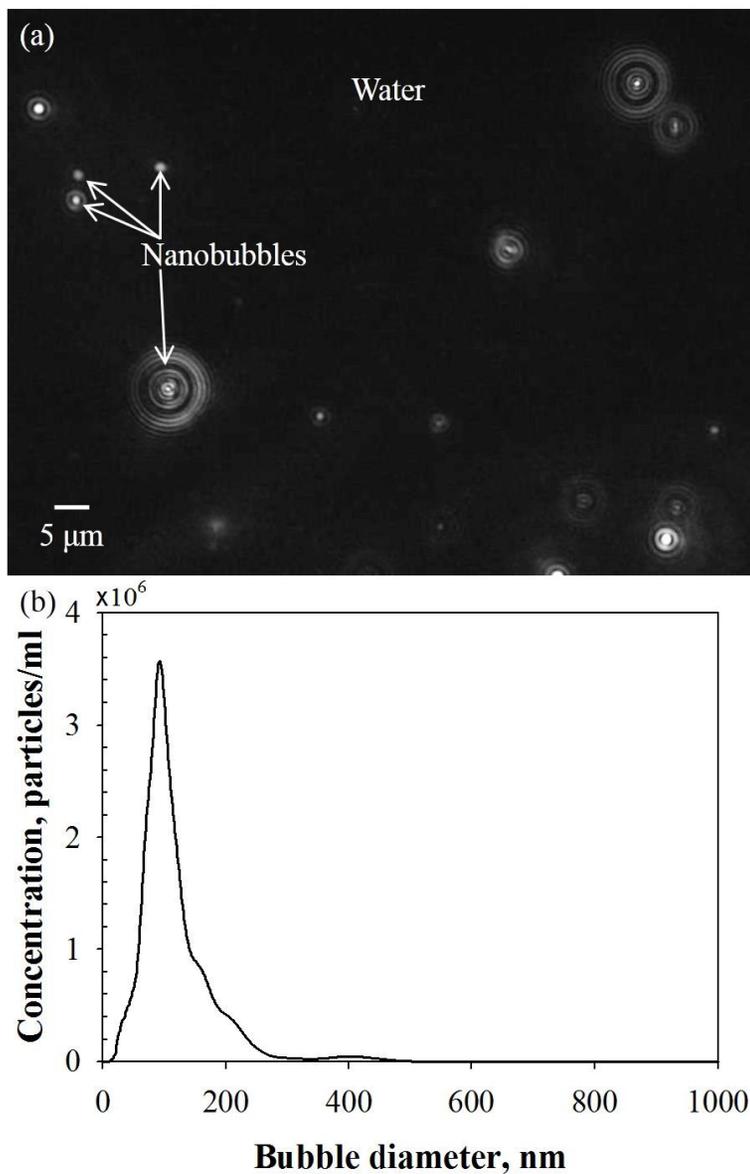


Fig. 2.5 Nanobubbles fabricated by Decompression type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles just after nanobubble generation.

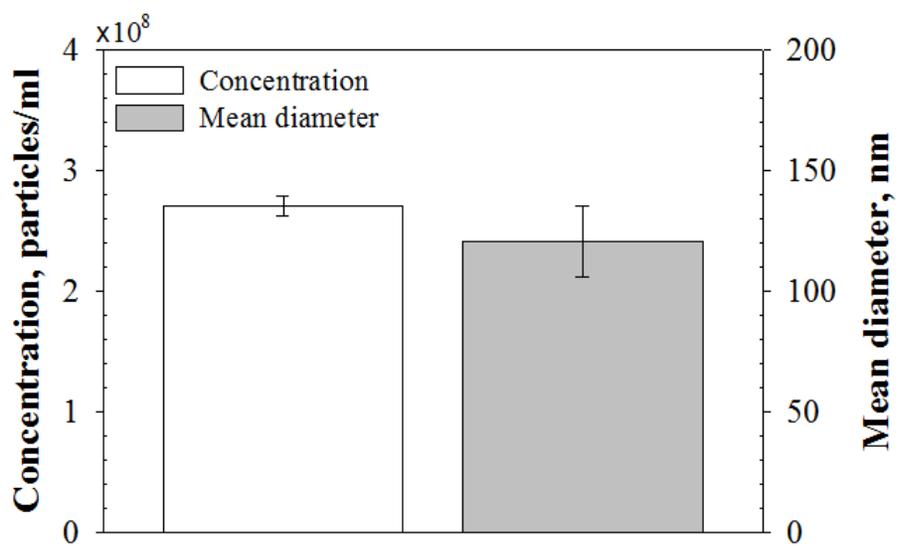


Fig. 2.6 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.

2.4 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성

2.4.1 정의

캐비테이션을 이용한 나노버블 생성은 일반적으로 초음파를 이용하는 것으로 알려졌다. 본 연구에서 제안하는 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 기법은 유로의 병목부에서 발생하는 유속 상승 및 압력 강하를 이용한 것이며, Cavitation type 나노버블 생성 기법에 속한다.

2.4.2 나노버블 생성 원리

캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 기법은 병목부를 흐르는 액체에 캐비테이션을 일으키고, 이로부터 액체를 기화시키거나 액체 내에 녹아있던 기체를 용출시켜 나노버블을 생성하는 기법이다. 이러한 캐비테이션의 발생은 연속 방정식 (continuity equation)과 베르누이 정리 (Bernoulli's theorem)을 통해 설명할 수 있으며, 각각의 공식을 식 (2.7)과 (2.8)에 나타냈다.

$$Q = Av = \text{Const.} \quad (2.7)$$

$$P + \frac{1}{2}\rho v^2 + \rho gh = \text{Const.} \quad (2.8)$$

여기에서 Q 는 유량, P 는 압력, ρ 는 밀도, v 는 유속, g 는 중력 가속도, h 는 높이를 나타낸다.

연속 방정식은 유로를 흐르는 액체의 질량은 어느점에 있어서나 동일하다는 것을 의미하며, 베르누이 정리는 계에 가한 일이 외부의 일, 위치에너지 및 운동에너지의 변화량의 합과 같다는 것을 의미한다.

먼저 Fig. 2.7 에 나타낸 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 장치에 (1)을 통과한 유량은 상대적으로 단면적이 좁은 (2)를 흐르는 유량과 동일해야 한다는 연속 방정식을 적용해 $v_{(1)} \square v_{(2)}$ 을 유도할 수 있다 (식 (2.9)). 한편 $h_{(1)} = h_{(2)}$ 를 고려한 베르누이 정리를 식 (2.10)에 나타냈으며, $v_{(1)} \square v_{(2)}$ 과 식 (2.10)으로부터 $P_{(2)} \square P_{(1)}$ 이 되어야 함을 알 수 있다.

$$A_{(1)}v_{(1)} = A_{(2)}v_{(2)} \quad (2.9)$$

$$P_{(1)} + \frac{1}{2}\rho v_{(1)}^2 = P_{(2)} + \frac{1}{2}\rho v_{(2)}^2 \quad (2.10)$$

또한 상기한 내용을 유한요소 해석 (COMSOL Multiphysics 3.5a)를 이용해 확인했으며, 사용한 경계 조건 및 물성치를 Fig. 2.9 와 Table 2.1 에 각각 정리하여 나타냈다. Fig. 2.8 에서 볼 수 있듯이, 나노버블 생성 장치는 상대적으로 넓은 유로를 갖는 유체 주입부와 캐비테이션이 일어나는 병목부로 구성되어 있다.

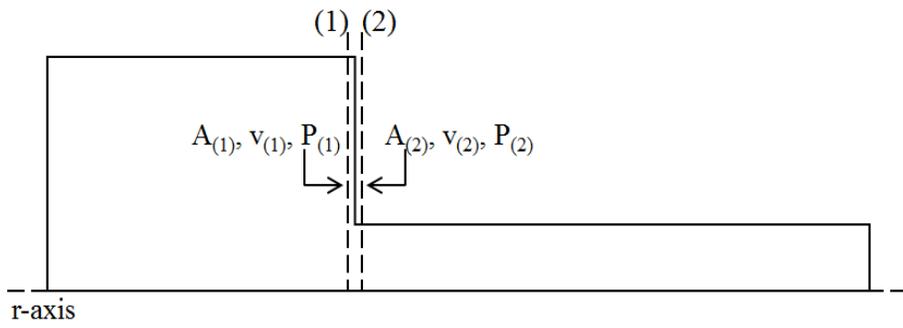


Fig. 2.7 A schematic view of Cavitation type nanobubble generator.

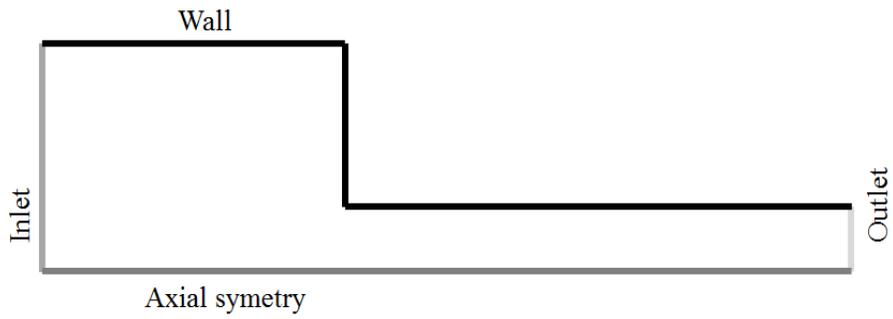


Fig. 2.8 Boundary conditions for finite element simulation.

Table. 2.1 Material properties used in finite element simulation.

Item	Property
Density, kg/m^3	1000
Dynamic viscosity, Pa·s	0.001

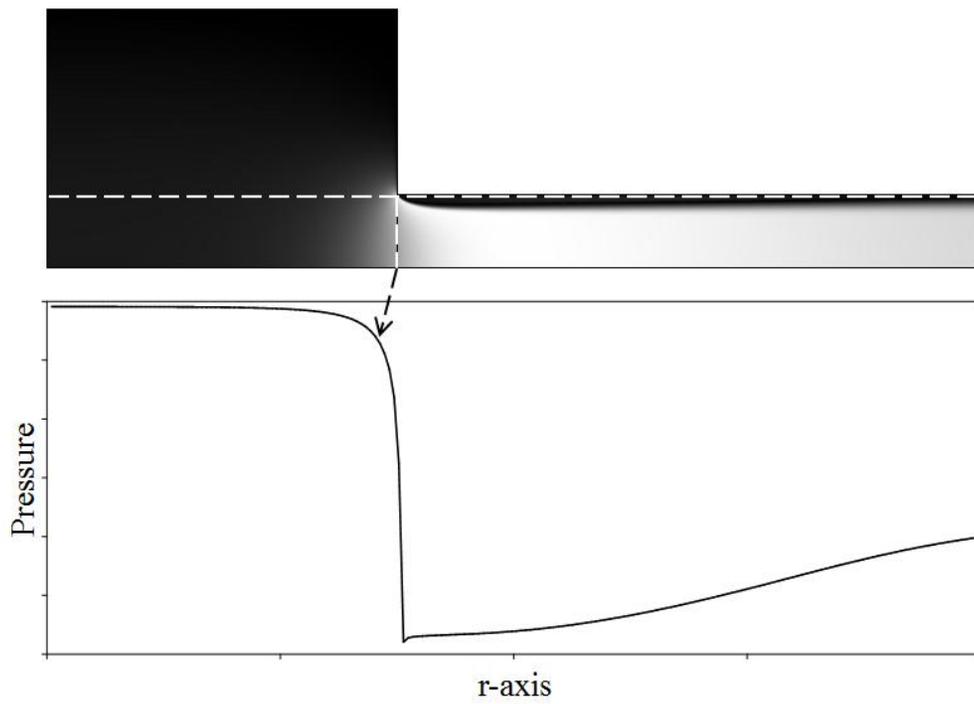


Fig. 2.9 Finite element simulation result.

획득한 유한요소 해석 결과를 Fig. 2.9 에 나타냈다. Fig. 2.9 에 나타낸 무채색 표면도 (gray scale surface plot)는 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 장치를 흐르는 액체의 유속을 나타내며, 흰색에 가까울수록 액체가 빠르게 흐른다는 것을 의미한다. 다시 말해 병목부에서 유속이 크게 상승했으며, 이는 연속방정식을 통해 살펴본 사실과 동일하다. 또한 병목부 벽면을 흐르는 유체의 압력을 Fig. 2.9 에 삽입된 그래프에서 확인할 수 있으며, 베르누이 정리를 통해 살펴본 것과 동일하게 압력이 감소하는 것을 알 수 있다. 동시에 압력 강하가 일어나고 음압이 발생하는 부분은 병목부 입구와 일치함을 확인할 수 있다.

결론적으로 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 장치에서는 좁아진 유로에 의해 유속이 상승하고, 이로 인한 압력 강하 및 음압으로 인해 병목부 입구 부분에서 캐비테이션이 발생한다. 따라서 낮은 압력에 의해 액체 내에 녹아있던 기체가 용출되고 액체가 기화되면서 버블이 생성될 것임을 알 수 있다. 또한 본 연구에서는 감압 기법에서와 동일하게 24 시간 동안 생성을 진행했다.

2.4.3 나노버블 생성 결과

생성 직후에 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 획득한 생성된 나노버블의 이미지를 Fig. 2.10(a)에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있는 흰색 점은 레이저에 의해 가시화된 나노버블을 나타내는 반면, 검은색 배경은 증류수를 나타낸다. 또한 나노버블을 생성하지 않은 증류수에서는 아무런

입자도 촬영되지 않고 검은색 배경만 확인할 수 있었다 (결과 미도시). 따라서 캐비테이션을 이용한 나노버블 생성 기법으로부터 나노버블이 확실하게 생성되었음을 알 수 있다.

생성된 나노버블의 크기 분포를 Fig. 2.10(b)에 나타내었으며, 단일 피크를 갖는 크기 분포가 나타남을 확인할 수 있다. 이를 통해 모드 직경이 101.25 ± 9.00 nm 인 거의 균일한 크기의 나노버블이 생성되었음을 확인할 수 있다. 또한 획득한 크기 분포를 통해, 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경은 앞서 나타낸 식 (2.5)와 (2.6)을 이용해 계산했다.

생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경은 각각 $4.55 \pm 0.51 \times 10^8$ particles/ml 와 145.25 ± 17.23 nm 로 계산되었으며, 이를 Fig. 2.11 에 나타내었다.

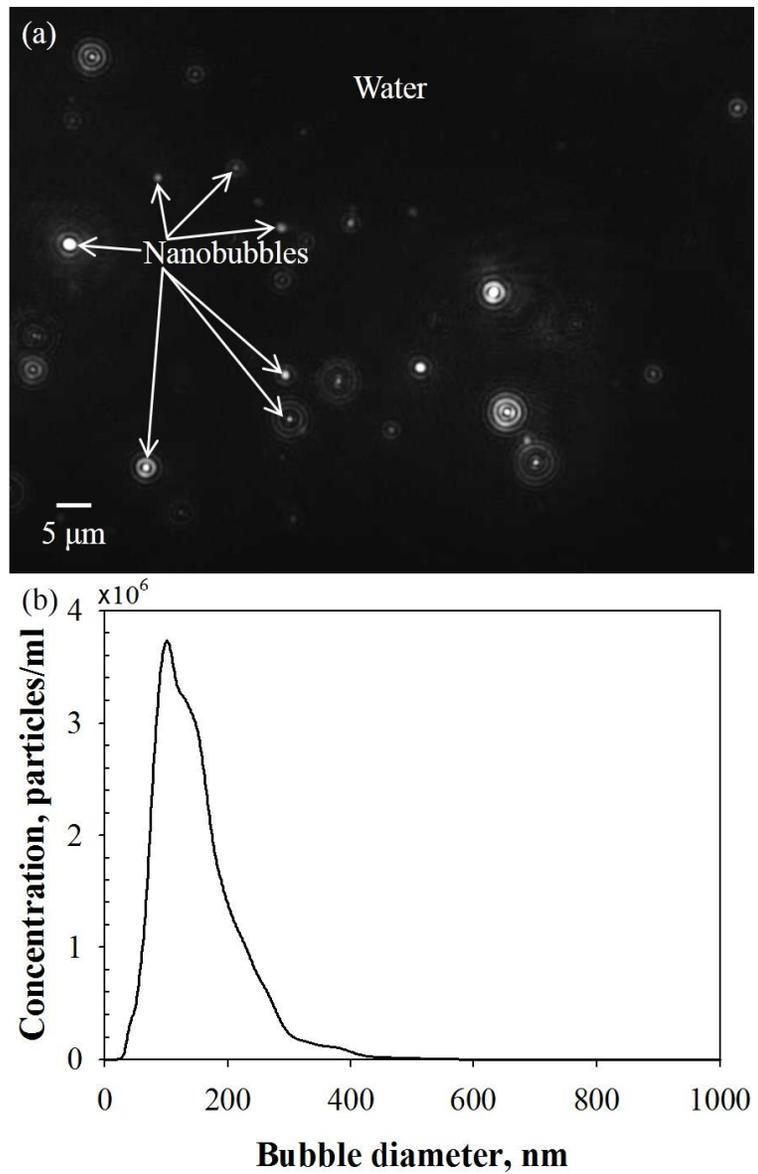


Fig. 2.10 Nanobubbles fabricated by Cavitation type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.

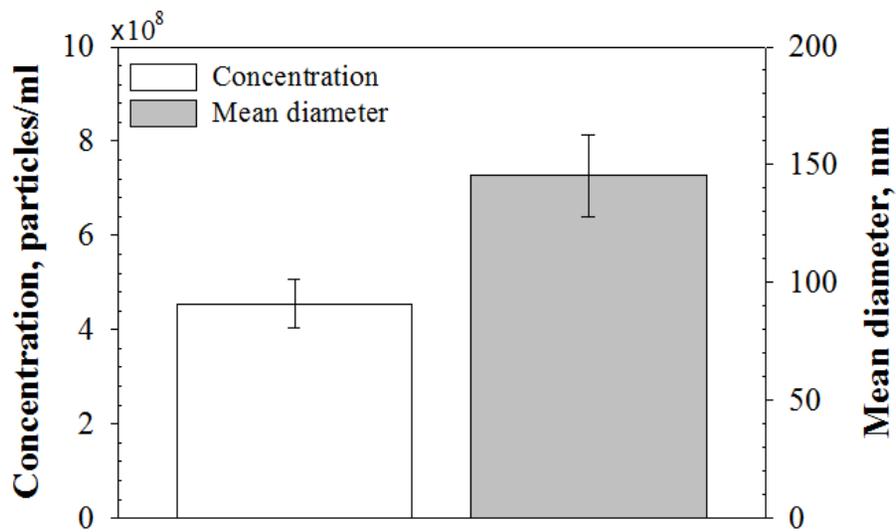


Fig. 2.11 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.



Fig. 2.12 Sea waves. Retrieved 6 Dec. 2016 from <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-images-ocean-sea-wave-pattern-image18952259>

2.5 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성

2.5.1 정의

기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성은 지금까지 개발된 나노버블 생성 기법으로 분류되지 않는 기법이며, 본 연구를 통해 처음으로 제안되는 기법이다. 본 생성 기법에서는 기체와 액체를 혼합하면 기-액 혼합물이 발생하는 현상을 이용해 나노버블을 생성한다.

2.5.2 나노버블 생성 원리

액체나 고체의 내부 또는 표면에서 그것에 둘러싸인 기체 덩어리를 기포 (bubble)라고 하며, 이러한 다수의 기포가 액체 또는 고체의 얇은 막으로 서로 격리된 상태로 모여있는 것을 포말 (bubble, foam)이라고 한다. 거품 (foam, froth)은 기포와 포말을 통틀어 일컫는 말이다 [53]. 일례로 Fig. 2.12 에 나타낸 바와 같이, 파도가 치면 바닷물의 색이 하얗게 변하는 것을 볼 수 있다. 이러한 색 변화는 바닷물에 무수히 많은 버블들이 생성되면서 산란이 일어나는 것에 기인한다.

상기 언급한 기-액 혼합물을 생성하는데 있어, 저점도 (low viscosity) 액체이거나 레이놀즈 수 (Reynold's number)가 10.0×10^3 이상일 경우, 난류 (turbulence)를 이용할 수 있다. 따라서 이를 응용한 다양한 기-액 혼합물 생성 기법이 개발되었으며 (Fig. 2.13), 탱크 바닥에서 다공질판 같은 기구를 이용해

액체 속으로 기체를 불어넣는 기포탑 (bubble column), 탑에 층을 이루어 배치된 다공질판 같은 기구를 이용해 기체의 회수 및 주입이 다층적으로 이루어지는 플레이트탑 (plate column), 기체가 주입되는 탱크 내에 회전 가능한 임펠러 (impeller) 설치되어 액체를 교반하는 기계적 교반 용기 (mechanically agitated vessel), 유동에서 기-액 혼합을 위한 에너지를 얻는 직렬형 스태틱 믹서 (in-line static mixer), 기구 중단에서 벤츄리 효과를 일으켜 기체를 흡입하고, 후단에서 난류를 일으켜 기체와 액체를 혼합하는 이젝터 (ejector), 액체 표면으로 분출 (jet)되는 액체에 의해 주변의 기체가 혼입되어 기-액 혼합물이 생성되는 돌진형 분사기 (plunging jet), 액체 표면에서 액체를 휘젓는 교반기 (agitator)가 탱크 상부 기체를 액체에 혼입하는 표면 폭기 장치 (surface aerator) 등이 있다 [54].

또한 스태틱 믹서의 경우, 스태틱 믹서와 스태틱 믹서에서 생성된 기-액 혼합물의 버블을 한번 더 미세화시키기 위한 미세화 기구를 연결함으로써 나노버블을 생성할 수 있는 것으로 알려졌으며, 대표적으로 버섯형태의 기둥을 갖는 OHR Labo 社의 OHR aerator [55]와 Peng 과 Yu [56]의 스태틱 믹서-벤츄리 관 (venture tube) 버블 생성 장치가 개발되어 있다. OHR aerator [55]는 관 내에 설치된 안내 날개 (guide vane)을 이용해 기-액 혼합물의 나선형 유동 (spiral flow)을 일으키고, 이 때 발생하는 원심력을 이용해 기-액 혼합물을 기체층 (관 중심부)과 액체층 (관 외곽면)으로 분리시킨다. 분리된 두 층의 경계에는 버섯 형태의 기둥들이 배치되어 있으며, 이들에 의해 기체와 액체가 골고루 섞이고 기둥과 액체 내 전단력에 의해 미세화되어 마이크로 및

나노버블이 생성된다. 또한 Peng 과 Yu [56]는 스테틱 믹서와 벤츄리 관이 직렬 연결된 장치를 제안했으며, 이를 통해 직경은 80 nm, 700 nm, 11 μ m 인 마이크로버블과 나노버블들이 생성될 수 있음을 보고했다.

이렇듯 스테틱 믹서는 나노버블을 생성하는데 유용함이 분명하나, 앞서 언급한 것과 같은 미세화 기구를 추가적으로 연결해야한다는 단점이 존재한다. 따라서 본 연구에서는 미세화 기구를 추가하지 않고 기-액 혼합 과정 자체만으로 나노버블을 생성할 수 있는 경제적인 기법을 고안했다. 또한 본 연구에서 제안하는 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법에서는 액체와 기체를 한 용기에 담고, 용기 자체에 지속적인 운동 에너지를 가해 기체와 액체를 혼합함으로써 나노버블을 생성한다.

나노버블 생성 과정에서 가해지는 운동 에너지는 액체를 작은 덩어리로 나누며, 액체 내 기체 혼입과 난류를 발생시킨다. 액체 덩어리에서 떨어져 나온 다양한 크기의 액적 및 액체 덩어리는 중력 또는 가해진 운동 에너지에 의해 다시 합쳐지며, 합쳐지는 액적들 또는 액체 덩어리들 사이의 기체를 액체 속으로 밀고 들어가면서 기체의 혼입이 일어난다. 이와 비슷한 현상은 Fig. 2.13(g)에 나타낸 돌진형 분사기 또는 액체를 잔에 따르는 경우에서도 찾아볼 수 있다. 또한 기-액 혼합 과정에서 액체에는 난류가 발생하며, 이로 인한 액체 내 전단력에 의해 버블이 미세화된다. 이러한 과정은 소정의 시간 동안 끊임없이 반복되며, 생성 과정 동안 지속적인 나노버블 생성이 이루어진다. 결과적으로 마이크로버블은 부상해서 사라지고 나노버블만 액체 내에 잔존하게 된다.

본 연구에서 제안하는 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법의 생성 장치 구성을 Fig. 2.14 에 도식화해 나타냈다. Fig. 2.14 에서 볼 수 있듯이, 기체와 액체를 담은 용기와 동력 장치와 용기를 연결하는 연결 기구로 구성되어 있으며, 본 연구에서는 이를 이용해 24 시간 동안 나노버블 생성을 진행했다. 마지막으로 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법으로부터 생성된 버블의 존재를 검증하기 위해 적외선 분광 분석을 수행했으며, 관련 내용은 본 논문의 [부록 1]에 서술되어 있다.

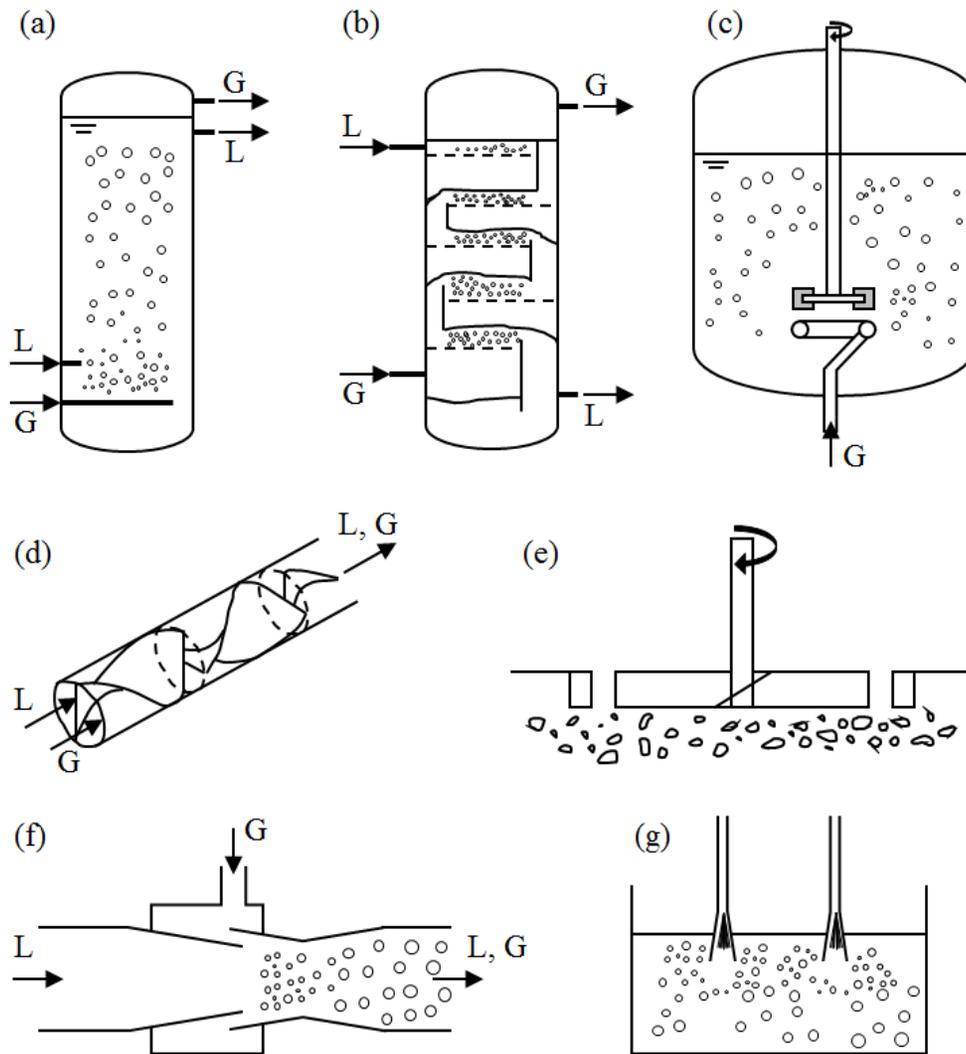


Fig. 2.13 Gas-liquid mixture generator for low-viscosity systems (a) bubble column (b) plate column (c) mechanically agitated vessel (d) in-line static mixer (e) surface aerator (f) ejector (g) plunging jet.

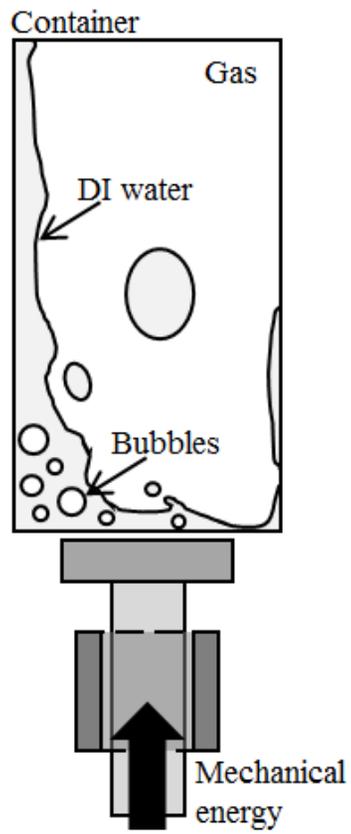


Fig. 2.14 A schematic view of Gas-liquid mixing type nanobubble generator.

2.5.3 나노버블 생성 결과

생성 직후에 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 획득한 생성된 나노버블의 이미지를 Fig. 2.15(a)에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있는 흰색 점은 레이저에 의해 가시화된 나노버블을 나타내는 반면, 검은색 배경은 증류수를 나타낸다. 또한 나노버블을 생성하지 않은 증류수에서는 아무런 입자도 촬영되지 않고 검은색 배경만 확인할 수 있었다 (결과 미도시). 따라서 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법으로부터 나노버블이 확실하게 생성되었음을 알 수 있다.

생성된 나노버블의 크기 분포를 Fig. 2.15(b)에 나타내었으며, 단일 피크를 갖는 크기 분포가 나타남을 확인할 수 있다. 이를 통해 모드 직경이 94.00 ± 9.90 nm 인 거의 균일한 크기의 나노버블이 생성되었음을 확인할 수 있다. 또한 획득한 크기 분포를 통해, 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경은 앞서 나타낸 식 (2.5)와 (2.6)을 이용해 계산했다.

생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경은 각각 $9.38 \pm 1.51 \times 10^8$ particles/ml 와 114.50 ± 13.44 nm 로 계산되었으며, 이를 Fig. 2.16 에 나타내었다.

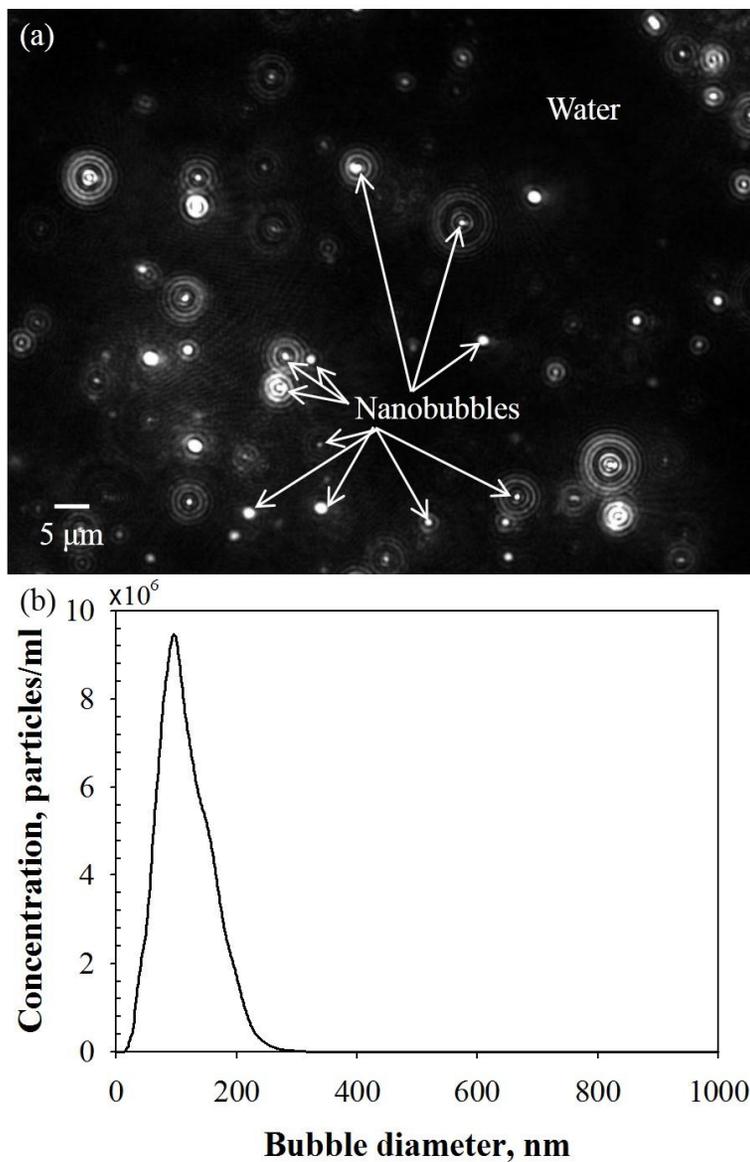


Fig. 2.15 Nanobubbles fabricated by gas-liquid mixing type generator (a) image of fabricated nanobubbles in DI water (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.

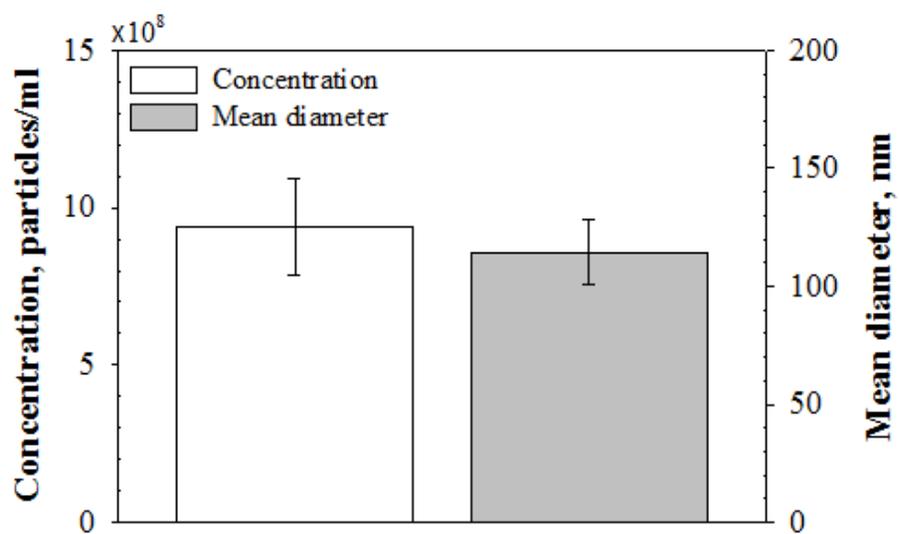


Fig. 2.16 Concentration and mean diameter of nanobubbles, just after nanobubble generation.

2.6 요약

본 장에서는 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법의 정의 및 나노버블 생성 원리를 정리하고, 각각의 기법을 이용해 생성한 나노버블을 입도 분석하여 이들의 모드 직경, 평균 직경, 개체수를 조사했다. 또한 본 장에서 획득한 결과들은 다음과 같이 열거할 수 있다.

- (1) 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 생성 기법을 거친 용액으로부터 레이저에 의해 검은색 배경 위에 가시화된 나노버블의 이미지를 획득한 반면, 증류수에서는 검은색 배경만 확인할 수 있었다. 이는 본 연구에서 제안하는 나노버블 생성 기법들로부터 나노버블이 확실하게 생성되었음을 의미한다.
- (2) 본 연구에서 제안하는 나노버블 생성 기법을 통해 생성된 나노버블의 모드직경, 평균 직경, 개체수를 Table. 2.2 에 정리하여 나타냈다. Table. 2.2 에서 볼 수 있듯이, 생성된 나노버블은 모든 생성 기법에서 200 nm 이하의 직경을 갖으며, 생성 기법에 대한 모드 및 평균 직경의 의존성은 찾아볼 수 없다.
- (3) 그러나 개체수의 경우, 기-액 혼합을 이용한 생성 기법에서 가장 큰 값이 나타난 반면, 감압을 이용한 생성 기법에서 가장 작은 값이 나타났다.

이러한 사실들로부터 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법은 $2.0\sim 10.0 \times 10^8$ particles/ml 의 나노버블을 생성하는데 유효하며, 기체 종류를 제어할 수 있는 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 추가 연구를 진행하는 것이 공학적 측면에서 나노버블의 안정성, 잠재적 응용 분야, 상용화 가능성 등을 검증하는데 있어 바람직할 것이라라는 결론을 얻었다.

Table. 2.2 Particles analysis results, just after nanobubble generation.

Item	Nanobubble generation method		
	Decompression	Cavitation	Gas-liquid mixing
Mode diameter, nm	92.67±3.79	101.25±9.00	94.00±9.90
Mean diameter, nm	120.67±14.57	145.25±17.23	114.50±13.44
Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	2.71±0.08	4.55±0.51	9.38±1.51

제 3 장 나노버블의 생성 및 안정성

3.1 서론

나노버블은 전 세계적으로 큰 관심을 받고 있으며, 나노버블을 생성하기 위한 기법 및 이를 이용한 응용 분야에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 나노버블의 존재 및 안정성은 여전히 논란의 대상이 되고 있다.

식 (1.2)에 나타난 Young-Laplace 공식에 따르면 직경이 1~999 nm 인 나노버블의 내압은 292101.33~393.62 kPa 로 계산되며, 이 압력은 대기압에 비해 최소 3.88 배 이상 크다. 그러므로 나노버블은 액체 내에 안정하게 존재하지 못하고 순식간에 터져서 사라져야 함을 알 수 있다. 그러나 본 논문의 2 장과 [부록 1]에 나타난 연구 결과들을 통해 나노버블이 실제로 존재할 수 있음을 확인했으며, 이들은 최소 1 분 30 초 (나노입자 추적 분석 기법으로 1 회의 입도 분석을 수행하는데 필요한 최소한의 시간) 동안 존재할 수 있음을 확인했다. 이와 같은 결과를 지지하는 이론적 내용이 Hemmingsen [10]과 Tolman [11]을 통해 발표된 바 있으며, 이들의 연구 결과는 Young-Laplace 방정식을 이용해 나노버블의 안정성을 예측하는 것은 부적절하다는 사실을 가리킨다. 그러나 이들의 연구 결과를 반박하는 연구 결과 역시 존재한다 [13].

따라서 본 연구에서는 감압과 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 나노버블을 생성하고, 시간 경과에 따른 입도 분석을 수행함으로써 나노버블의 안정성을 조사할 것이다. 이를 위해 증류수, 가솔린, 수소 기체를 이용했으며, 나노버블의 안정성을 고찰하기 위한 제타 전위 측정을 수행했다.

3.2 실험 방법

3.2.1 실험 재료

본 연구에서는 나노버블을 생성하기 위해, 증류수 (No. 119, HPLC grade, Duksan Pure Chemicals Co., Korea), 가솔린 (Octane rating: 91-94, Hyundai Oilbank Co. Ltd., Korea), 수소 기체 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)를 사용했다. 또한 상기 재료에 대한 추가적인 정화 작업을 수행하지 않고 제조사로부터 받은 그대로 사용했다.

3.2.2 나노버블 생성

감압과 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수와 가솔린 내에 나노버블을 생성 (나노버블 수, 나노버블 혼합 가솔린)했으며, 각각의 기법에 대한 자세한 내용은 2 장 3 절과 2 장 5 절에 서술되어 있다.

3.2.3 입도 분석

본 연구에서는 동적 광산란 기법과 다르게, 정량적인 개체수를 획득할 수 있는 나노입자 추적 분석 기법 (NanoSight LM10-HSBFT14, Quantum Design Korea, Korea)을 이용해 입도 분석을 수행했다. 입도 분석을 수행하기 위해 사용한 나노입자 추적 분석 기법에 대한 자세한 내용은 2 장 2 절 2 항에 서술되어 있다.

그러나 본 연구에서는 입도 분석 결과의 신뢰성을 높이기 위해 액체의 종류에 따라 서로 다른 레이저를 사용했다. 이는 나노버블이 생성된 액체의 종류에 따라 입자 산란의 정도가 달라지는 것에 기인하며, 증류수 내 나노버블의 측정에서는 405 nm 레이저를 사용한 반면, 가솔린 내 나노버블의 측정에서는 638 nm 레이저를 사용했다.

3.2.4 제타전위 측정

액체 내에 분산되어 있는 입자 표면의 전하는 입자 주위의 이온 분포에 영향을 미치며 이들은 입자 표면이 띠는 전기적 부호와 반대되는 부호를 갖는 이온들의 농도를 높인다. 결과적으로 각각의 입자 주변에는 전기 이중층 (electrical double layer)이 형성된다. 따라서 입자 주변의 액체층은 두 가지 층으로 구분되며 이온들이 강하게 묶여 있는 고정층 (stern layer)이라고 불리우는 입자에 가까운 내부 지역과 그렇지 못한 외부 지역으로 구분된다. 외부 지역에서는 이온 농도가 점진적으로 감소하는 확산층 (diffuse layer)이 존재한다. 이러한 확산층은 입자가 이동할 때 입자와 함께 이동하지만

확산층에서 멀리 떨어져 있는 이온들은 그렇지 못하며, 입자와 함께 이동하지 못하는 이온들이 존재하는 경계를 미끄럼 면 (slipping plane)이라고 부른다. 동시에 이 경계에 존재하는 전위를 제타 전위 (ζ -potential)라고 정의한다 (Fig. 3.1).

제타 전위의 크기는 콜로이드계 (colloidal system)의 안정성을 가리키는 지표이다. 액체 내에 분산된 입자들이 강한 음의 제타 전위 또는 양의 제타 전위를 나타낼 경우, 입자들은 서로 밀어내는 경향을 갖게되어 입자들의 응집 (flocculate)이 억제된다. 그러나 제타 전위의 절대값이 작을 경우, 입자들 사이의 척력이 작아지므로 입자들이 서로 가까워지며 응집이 일어나게 된다. 일반적으로 ± 30 mV 가 용액의 안정성을 평가하는 경계가 되며, 용액의 제타 전위가 +30 mV 이상이거나 -30 mV 이하일 경우 안정한 용액이라고 한다. 또한 제타 전위의 크기와 용액의 안정성을 구분하는 세부적인 내용은 Table. 3.1 에 나타내었다 [57].

한편 제타 전위에 가장 큰 영향을 미치는 요인은 pH 이다. 예를 들어 음의 제타 전위를 띠는 용액에 염기성 물질 (OH⁻)이 추가된다면, 입자는 음 전하를 얻게 된다. 여기에 산성 물질 (H⁺)이 계속적으로 추가될 경우, 음 전하가 중성화되는 지점을 지나 입자의 표면이 양 전하를 띠게 된다. 그러므로 제타 전위와 pH 의 곡선은 낮은 pH 에서 양의 값을 보이는 반면, 높은 pH 에서 음의 값을 나타낸다. 또한 전하가 중성화되는 제타 전위가 0 mV 인 지점을 등전점 (isoelectripoint)라고 정의하며, 이 지점은 용액의 분산성이 가장 낮은 지점을 뜻한다.

이러한 제타 전위는 전기영동 이동도를 측정하고, 이를 Henry 방정식 (Henry equation)에 대입하여 계산되는 값이다. 전기영동 이동도는 측정 대상물에 대한 전기영동 (electrophoresis) 실험을 통해 측정되는 값이며, 일반적으로 레이저 속도계 (laser Doppler velocimetry)를 통해 액체 내에 분산되어 있는 입자의 속도를 측정함으로써 획득할 수 있다. 그러나 본 연구에서는 레이저 속도계 대신 위상 분석 광산란 (phase analysis light scattering)을 사용해 전기영동 이동도를 측정하고 제타 전위를 계산했다. 레이저 속도계는 운동하는 물체에서 산란되는 빛의 주파수는 입사광의 주파수와 동일하지 않으며, 이와 같은 주파수 변이 (frequency shift)는 물체의 속도에 의존한다는 도플러 효과 (Doppler effect)를 이용해 입자의 이동도를 측정한다. 그러나 위상 분석 광산란은 이름에서 알 수 있듯이 입자의 속도에 비례하는 빛의 위상 변이 (phase shift)를 감지해 전기영동 이동도를 측정하는 기법이다. 또한 위상 변이를 감지하는 것은 주파수 변이를 감지하는 것에 비해 더욱 민감하므로, 투명한 나노버블의 제타 전위를 측정하는데 유리하다.

최종적으로 측정된 전기영동 이동도를 Henry 방정식에 대입하여 제타 전위를 계산하게 되며, Henry 방정식은 식 (3.1)과 같이 정의된다.

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (3.1)$$

여기에서 U_E 는 전기영동 이동도, ε 는 유전 상수 (dielectric constant), ζ 는 제타 전위, η 는 점도, $f(ka)$ 는 Henry의 함수를 나타내며, $f(ka)$ 는 1.5 또는 1.0을 대입할 수 있다. 수용성 용매 (aqueous solvent)인 경우, $f(ka)$ 로 1.5를 사용한다 (Smoluchowski approximation). 그러나 유전 상수의 크기가 작은 비수용성 용매 (non-aqueous solvent)의 경우, $f(ka)$ 로 1.0을 사용한다 (Hückel approximation).

마지막으로 본 연구에서는 증류수와 가솔린 내에 생성된 나노버블의 제타 전위를 측정했으며, 이를 위해 640 nm 레이저가 장착된 제타 전위 측정 장치 (ZetaPALS, Brookhaven Instrument Corporation, USA)를 사용했다. 또한 사용된 물성치를 Table. 3.2에 정리해서 나타냈다.

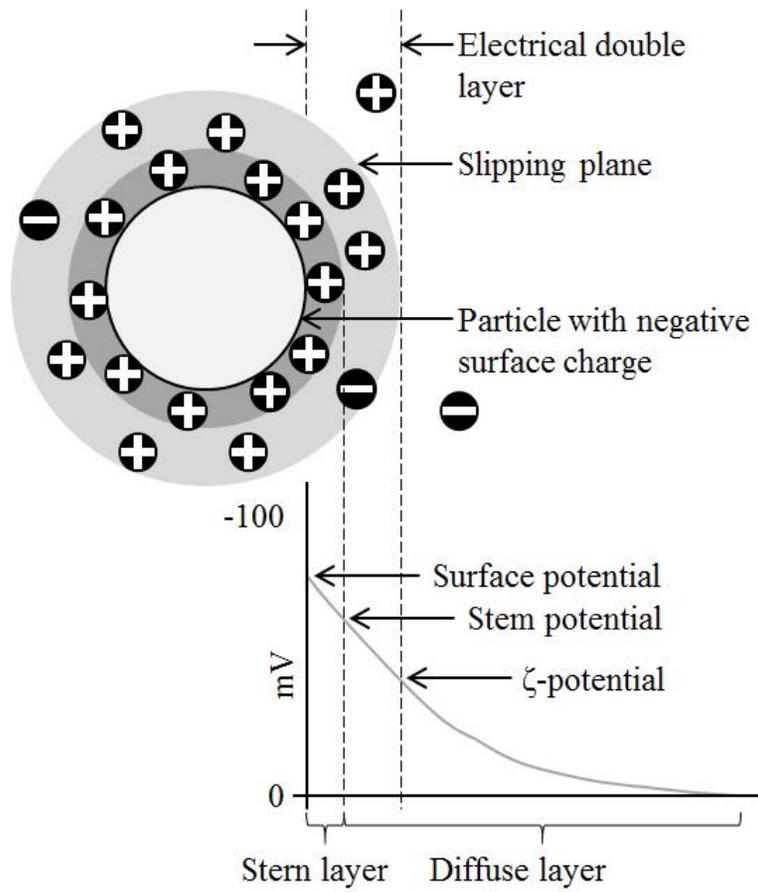


Fig. 3.1 A schematic view of charged particle.

Table. 3.1 The relationship between ζ -potential and qualitative stability of the solution.

ζ-potential, mV	Stability of solution
from 0 to ± 5	Rapid coagulation or flocculation
from ± 10 to ± 30	Incipient instability
from ± 30 to ± 40	Moderate stability
from ± 40 to ± 60	Good stability
more than ± 61	Excellent stability

Table. 3.2 Properties for ζ -potential measurement.

Item	Nanobubble water	Nanobubble gasoline blend
Electricfield field strength, V/cm	27.45~27.76	83.84~84.32
Refractive index	1.331	1.4
Dielectric constant	78.54	1.98
Viscosity, mPa·s	0.89	0.55

3.3 결과 및 고찰

본 연구에서는 2 장에서 내린 결론으로부터 감압과 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수와 가솔린 내에 나노버블을 생성하고 시간 경과에 따른 입도 분석을 수행함으로써 생성 기법별 나노버블의 안정성을 조사했다. 또한 생성된 나노버블의 안정성을 고찰하기 위해 시간 경과에 따른 제타 전위 측정을 수행했다.

3.3.1 나노버블 생성

(i) 증류수 내 나노버블 생성: 감압과 기-액 혼합 기법을 이용해 나노버블 수를 생성했으며, 생성 직후, 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 생성된 나노버블의 입도 분석을 수행했다. 그러나 두 가지 기법을 이용한 나노버블 생성에 앞서, 증류수에 존재할 수 있는 나노 크기의 불순물의 존재를 확인하기 위한 입도 분석을 수행했으며 증류수에서는 아무런 불순물도 찾을 수 없었다 (결과 미도시, 불순물이 존재하지 않으므로 나노입자 추적 분석 기법을 통해 검은색 배경 밖에 획득할 수 없었다).

이와 반대로, 감압 또는 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 과정을 거친 증류수에서는 나노입자 추적 분석 장치의 챔버에서 레이저에 의해 가시화된 나노버블을 감지할 수 있었다. Fig. 3.2 에 나타낸 바와 같이 가솔린 내에 생성된 나노버블들은 검은색 배경에 흰색 점으로 나타나며, 상대적으로 직경이 큰 버블은 작은 버블에 비해 밝고 크게 나타난다. 또한 Fig. 3.3(a)와

(b)를 비교함으로써 한눈에 기-액 혼합을 이용한 생성 기법에서 감압을 이용한 생성 기법에 비해 매우 많은 나노버블이 생성되었음을 알 수 있다.

또한 생성된 나노버블의 크기 분포를 Fig. 3.3 에 나타내었다. 나노버블 생성 기법의 종류에 관계 없이 증류수 내에는 다양한 크기를 갖는 나노버블들이 존재하지만, 전체적으로 보았을 때, 단일 피크를 갖는 거의 균일한 크기의 나노버블이 생성되었음을 알 수 있다. 모드 직경은 감압 및 기-액 혼합을 이용한 생성 기법에서 각각 92.67 ± 3.79 nm 와 94.00 ± 9.90 nm 로 측정되었다.

획득한 크기 분포와 식 (2.5) 및 (2.6)을 이용해 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경을 계산했으며, 계산된 결과를 Fig. 3.4 에 나타냈다. 감압을 이용해 생성된 나노버블의 개체수 및 평균 직경은 각각 $2.71 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 와 120.67 ± 14.57 nm 로 계산된 반면 (Fig. 3.4(a)), 기-액 혼합을 이용해 생성된 나노버블의 개체수 및 평균 직경은 각각 $9.38 \pm 1.51 \times 10^8$ particles/ml 와 114.50 ± 13.44 nm 로 계산되었다 (Fig. 3.4(b)). 따라서 두 기법의 주된 차이는 생성된 나노버블의 개체수에서 나타남을 알 수 있으며, 단위 시간당 생성되는 나노버블의 수가 더 많은 기-액 혼합 기법이 나노버블의 고속 생성에 유리함을 알 수 있다.

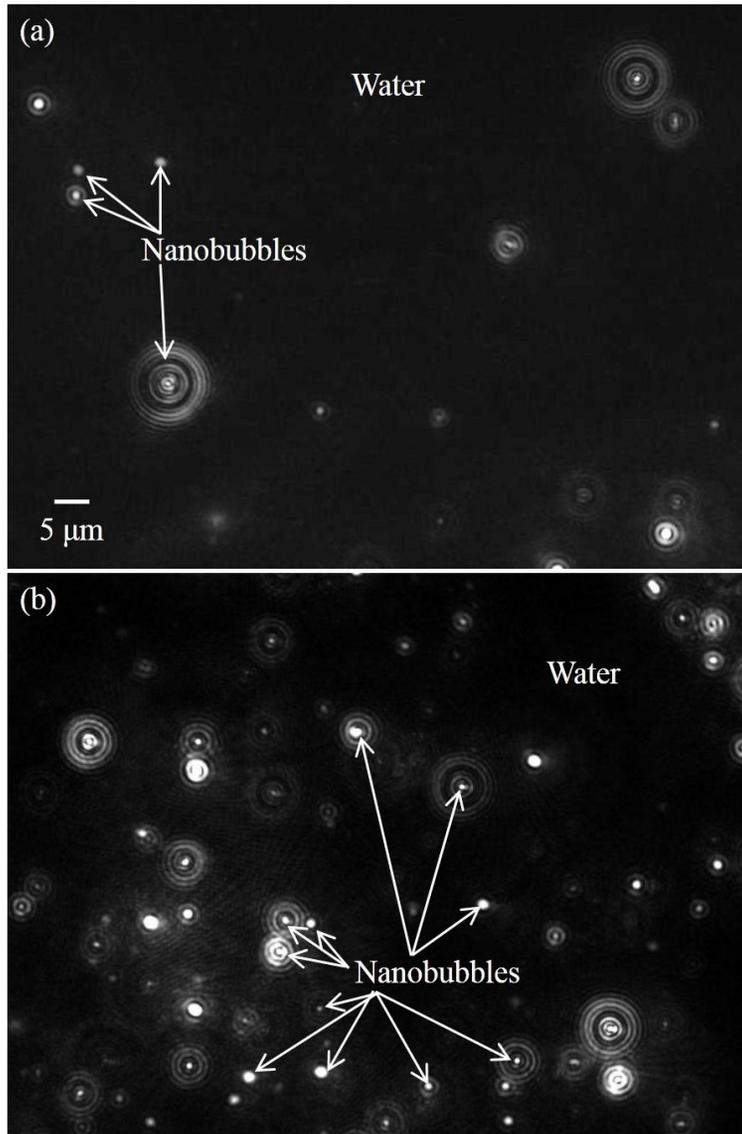


Fig. 3.2 Images of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator, just after nanobubble generation.

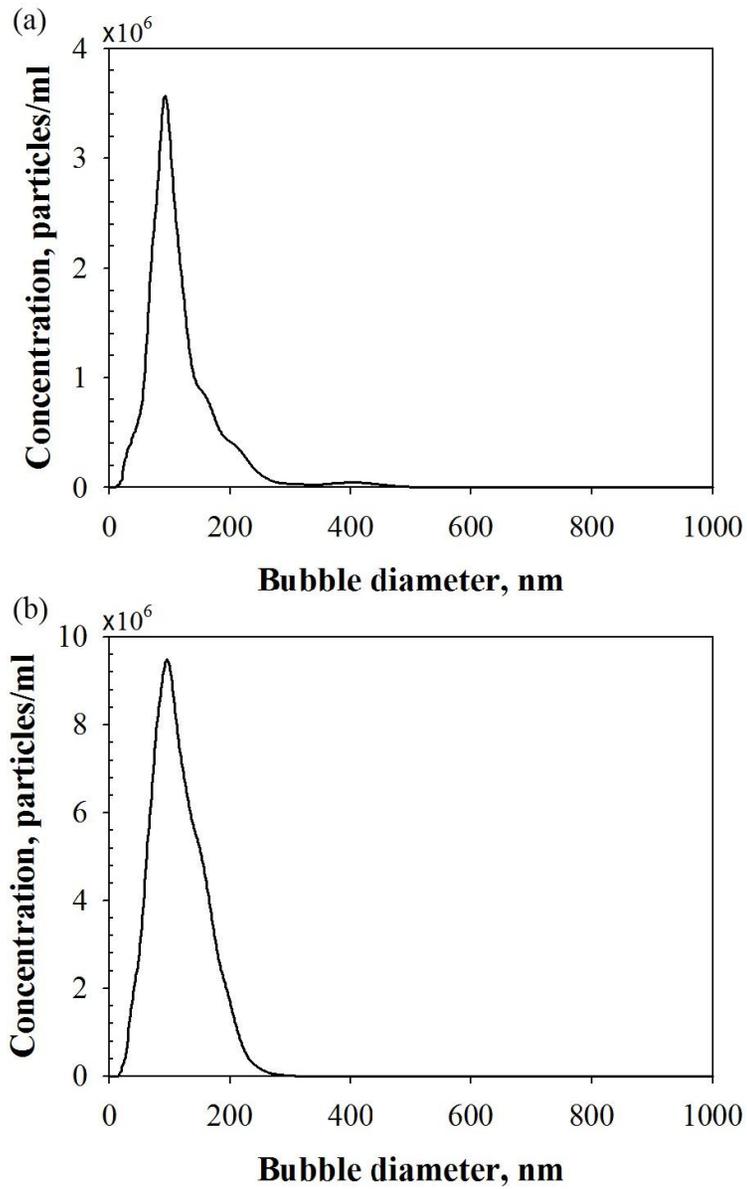


Fig. 3.3 Size distribution of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator
(b) Gas-liquid mixing type generator, just after nanobubble generation.

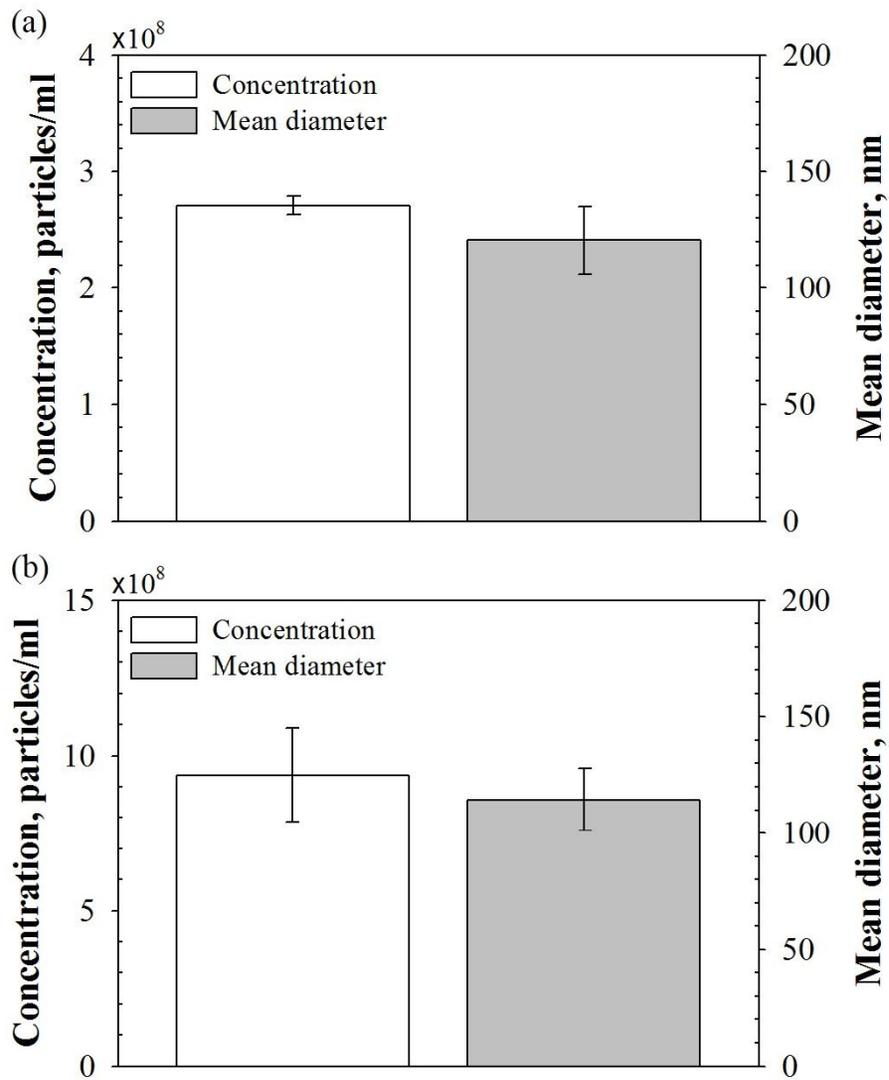


Fig. 3.4 Mean diameter and concentration of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator.

(ii) 가솔린 내 나노버블 생성: 앞서 살펴본 증류수에 대한 나노버블 생성에서와 마찬가지로 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 혼합 가솔린을 생성했으며, 생성 직후, 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 생성된 나노버블의 입도 분석을 수행했다. 그러나 가솔린 내에 나노버블 생성하기에 앞서, 가솔린에 존재할 수 있는 나노 크기의 불순물의 존재를 확인하기 위한 입도 분석을 수행했으며 가솔린에서는 아무런 불순물도 찾을 수 없었다. 또한 나노버블 생성 공정이 종료된 직후, 기-액 혼합을 통해서도 가솔린 내에 나노버블이 생성되지 않음을 확인했다 (결과 미도시, 불순물이 존재하지 않으므로 나노입자 추적 분석 기법을 통해 검은색 배경 밖에 획득할 수 없었다).

이와 반대로, 감압을 이용한 나노버블 생성 과정을 거친 가솔린에서는 나노입자 추적 분석 장치의 챔버 내 레이저에 의해 가시화된 나노버블을 감지할 수 있었다. Fig. 3.5(a)에 나타낸 바와 같이, 가솔린 내에 생성된 나노버블들은 검은색 배경에 흰색 점으로 나타나며, 상대적으로 직경이 큰 버블은 작은 버블에 비해 밝고 크게 나타난다. 또한 Fig. 3.5(b)에서 볼 수 있듯이 가솔린 내에는 다양한 크기를 갖는 나노버블들이 존재하지만, 전체적으로 보았을 때, 단일 피크를 갖는 거의 균일한 크기의 나노버블이 생성되었음을 알 수 있다. 모드 직경은 123.00 ± 23.02 nm 로 측정되었다.

또한 크기 분포와 식 (2.5), (2.6)을 이용해 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경을 계산했다. 획득한 결과를 Fig. 3.6 에 나타냈으며, 생성된

나노버블의 개체수 및 평균 직경은 각각 $11.25 \pm 2.77 \times 10^8$ particles/ml 와 159.00 ± 31.91 nm 로 나타남을 알 수 있다.

가솔린에 대한 나노버블 생성에 관한 연구는 진행된 사례가 없지만, 물에 대한 나노버블 생성의 경우, 본 연구를 포함한 다수의 연구가 진행된 바 있다 [19-22, 58]. 나노버블의 생성은 복잡한 물리화학적 과정이 동반되며, 널리 사용되는 방법은 초음파를 이용한 캐비테이션 [22, 59]과 감압 [60, 61]에 기반한 기법들이다. 앞서 2 장 3 절에서 설명했듯이, 감압을 이용한 나노버블 생성 기법에서는 낮은 온도 또는 높은 압력 하에서 만들어지는 과포화된 용존 기체를 이용한다. 이러한 과포화 조건에서 용존된 기체는 상당히 불안정하며, 결국에는 용액 내로 빠져나와 다수의 버블들을 생성한다. Ushikubo et al. [60]은 고압 (0.25~0.27 MPa)에서 과포화된 용존 산소 (44.5 mg/L) 용액을 생성했으며, 이를 통해 직경이 약 137 nm 인 나노버블을 생성했다고 보고한 바 있다.

한편 가솔린은 증류수와 다르게 탄화수소 (hydrocarbon), 첨가제, blending agent 등이 혼합된 혼합물이며, 가솔린의 전형적인 구성 요소들은 4~8 vol% 알칸족 (alkanes), 2~5 vol% 알켄족 (alkenes), 25~40 vol% 아이소알칸족 (isoalkanes), 3~7 vol% 사이클로알칸족 (cycloalkanes), 1~4 vol% 사이클로알켄족 (cycloalkenes), 20~50 vol% 방향족 (0.5~2.5 vol% 벤젠 (benzene))들이다 [62]. 또한 가솔린에 대한 수소 기체 용해도는 온도, 압력, 가솔린의 구성 요소들에 큰 영향을 받으며, Henry 의 법칙을 따라 압력과 탄화수소 수 (hydrocarbon number)가 증가할수록 증가하는 것으로 알려졌다 [63]. Tsuji et al. [64]은 0.5 MPa, 30 °C 조건에서 사이클릭과 방향족 탄화수소에 대한 수소 기체 용해도를

보고했으며, 저자들의 실험 결과는 벤젠, 사이클로헥산 (cyclohexane), 메틸사이클로헥산 (methylcyclohexane), 톨루엔 (toluene)에서의 수소 용해도가 각각 0.001, 0.002, 0.0015, 0.0025 몰 분율 (mole fraction)으로 나타남을 보여주었다. 비록 가솔린에 대한 수소 기체의 용해도가 분명하게 밝혀지지 않았으나, 본 연구에서 사용한 높은 압력 조건에 의해 수소는 가솔린에 과포화되었을 것이 분명하며, 이를 뒷받침할 수 있는 감압 직후에 나타난 압력 탱크 바닥에서의 끓음 현상을 Fig. 3.7 에 나타냈다. 결과적으로 이와 같은 과포화된 수소 기체는 감압 후에 가솔린 내로 빠져나와 나노버블을 생성한다.

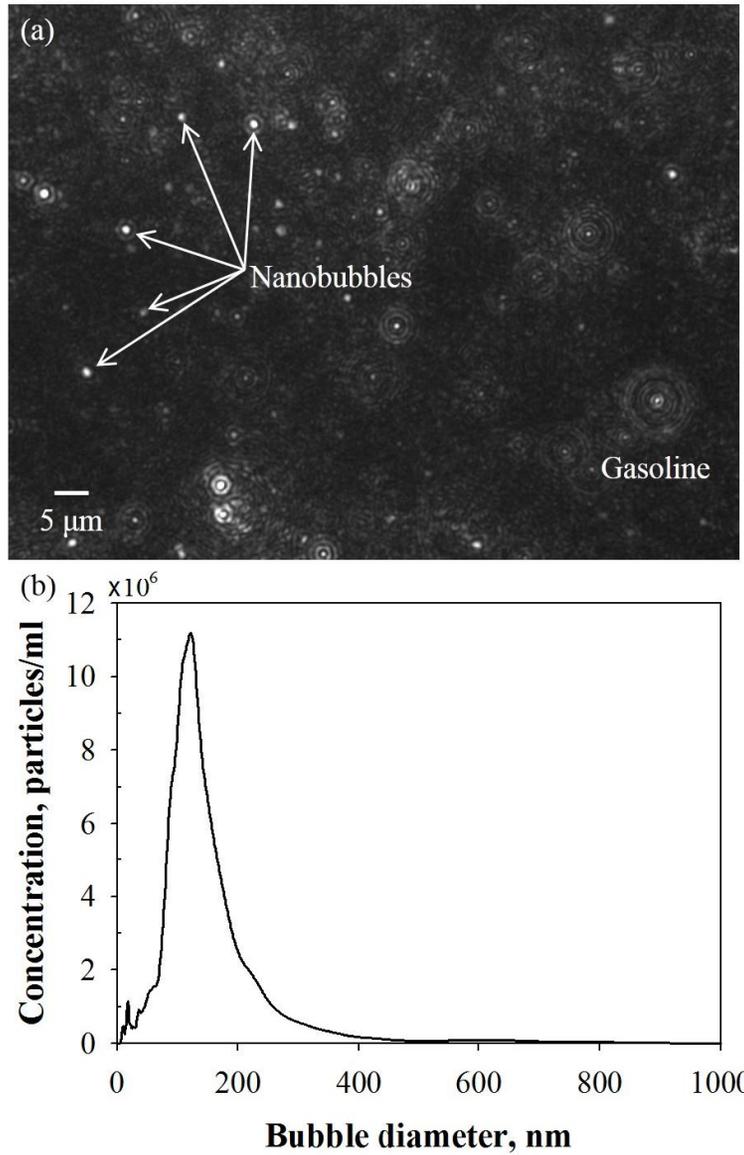


Fig. 3.5 Nanobubbles fabricated in gasoline (a) images of fabricated nanobubbles (b) size distribution of fabricated nanobubbles, just after nanobubble generation.

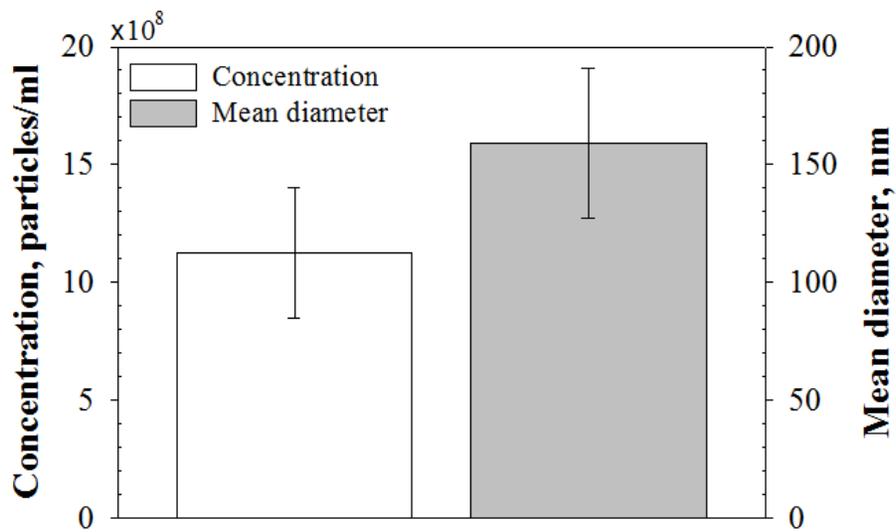


Fig. 3.6 Particle analysis results obtained from nanobubble gasoline blend (a) concentration (b) mean diameter, just after nanobubble generation.

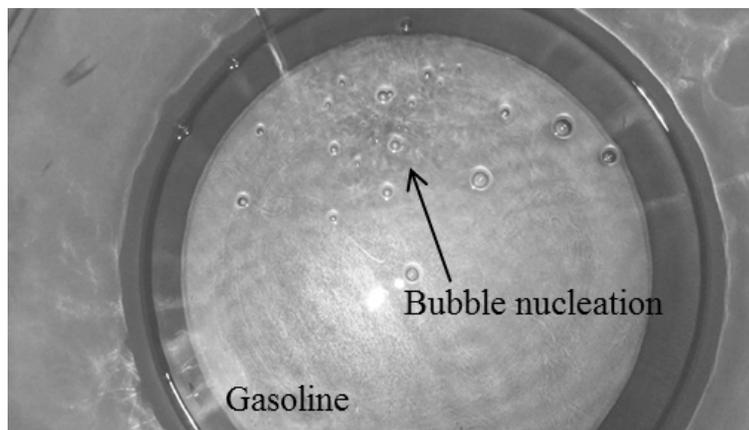


Fig. 3.7 Heterogeneous nucleation at the bottom of gasoline tank, just after decompression.

3.3.2 나노버블의 안정성

(i) 증류수 내 나노버블의 안정성: 증류수에 생성된 나노버블의 안정성을 조사하기 위해 상온, 상압에서 보관한 나노버블 수를 시간 경과에 따라 입도 분석했다. 입도 분석은 7 일간 진행되었으며 획득한 결과를 Fig. 3.8~3.13에 나타냈다.

시간 경과에 따라 촬영한 나노버블의 이미지를 Fig. 3.8 와 Fig. 3.9 에 나타내었으며, 감압 기법에 의해 생성된 나노버블의 개체수는 시간 경과에 무관함을 알 수 있다 (Fig. 3.8). 그러나 Fig. 3.9 에서 확인할 수 있듯이, 기-액 혼합 기법을 통해 생성된 나노버블은 시간이 경과할수록 점점 사라짐을 알 수 있다. 또한 나노버블의 직경 및 개체수 변화를 조사하기 위한 시간 경과에 따른 크기 분포를 Fig. 3.10 에 나타냈다. 감압 기법을 통해 생성된 나노버블의 크기 분포는 시간이 경과함에 하나의 주요 피크만 갖는 단분산계에서 주요 피크 근처에 추가 피크가 나타나면서 다분산계로 변화하지만 이들 피크는 공통적으로 50~150 nm 사이에서 나타난다 (Fig. 3.10). 이러한 결과는 감압 기법에 의해 생성된 나노버블 수가 수소 기체로 과포화되어 있는 것에 기인한다. 나노버블 생성 직후 이루어지는 감압으로 인해 나노버블 용액에는 더 이상 수소 기체가 공급되지 않지만 나노버블 용액은 수소 기체로 과포화된 상태이며, 균질 핵생성에 의해 생성된 핵의 성장이 지속적으로 이루어질 수 있는 조건이 갖추어진 상태이다. 또한 높은 용존 기체 농도는 버블 내 기체가 주변 액체로 확산되어 사라지는 것을 방해하므로 크기 분포의 피크 값이 급격하게 변화하지 않는다.

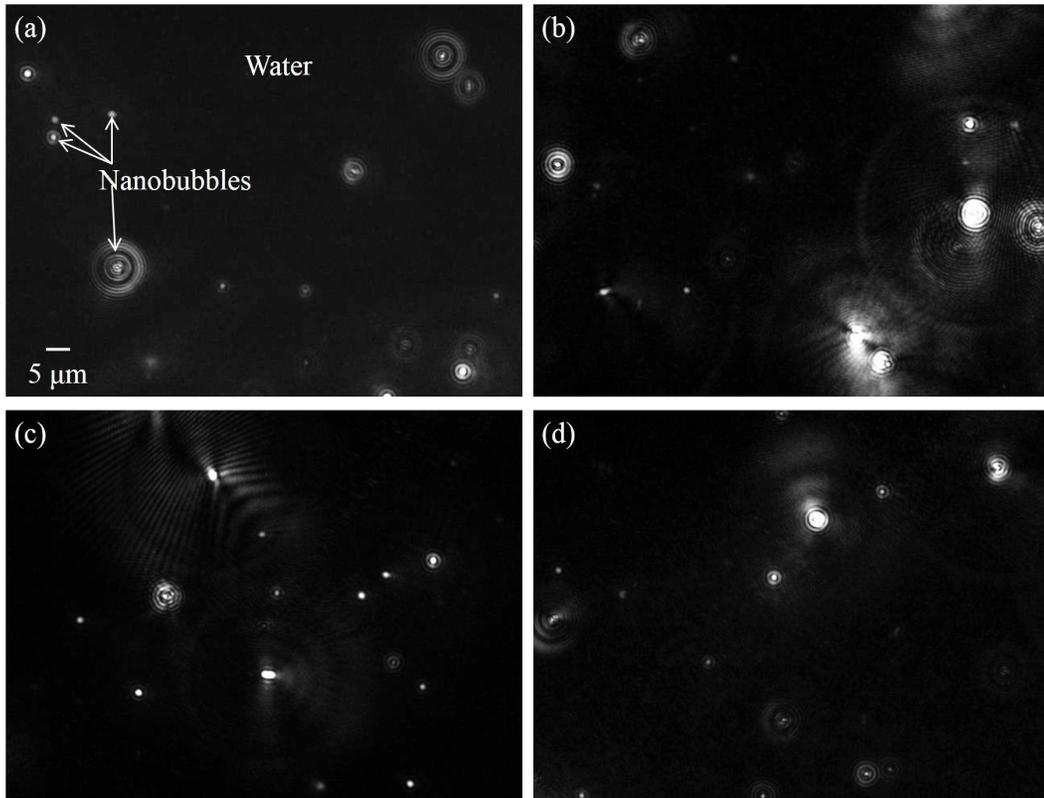


Fig. 3.8 Images of nanobubbles fabricated by decompression type generator (a) just after fabrication (b) 2 days elapsed (c) 4 days elapsed (d) 7 days elapsed.

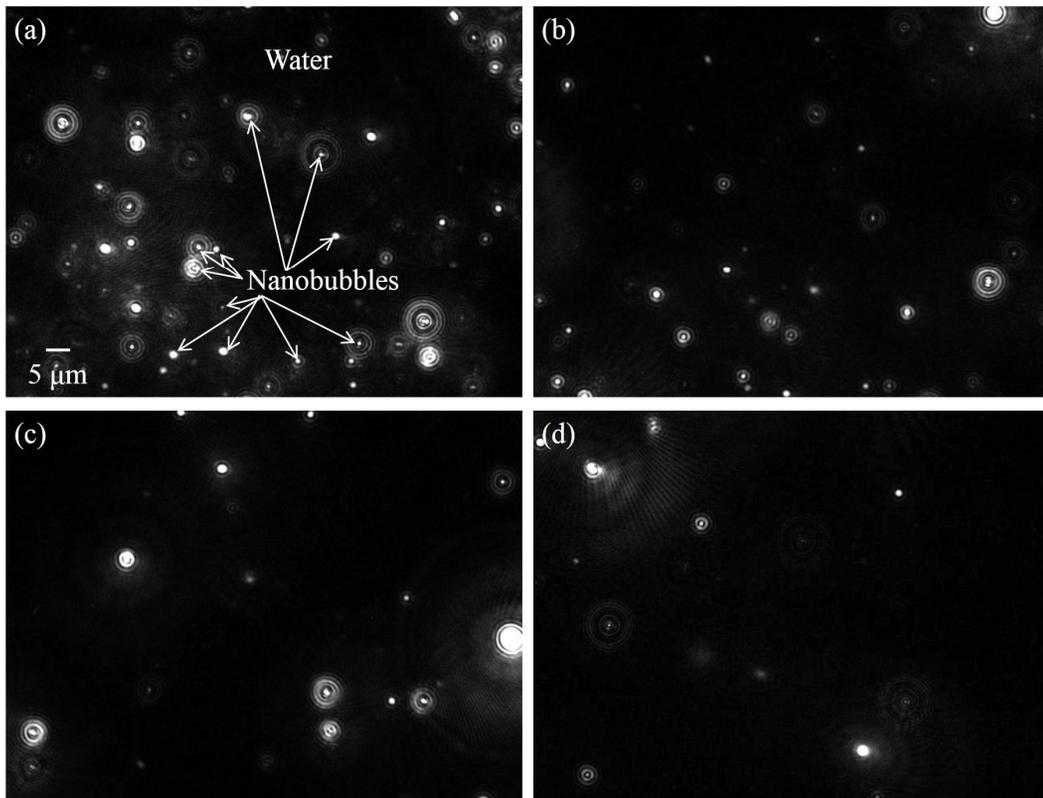


Fig. 3.9 Images of nanobubbles fabricated by gas-liquid mixing type generator (a) just after fabrication (b) 2 days elapsed (b) 4 days elapsed (d) 7 days elapsed.

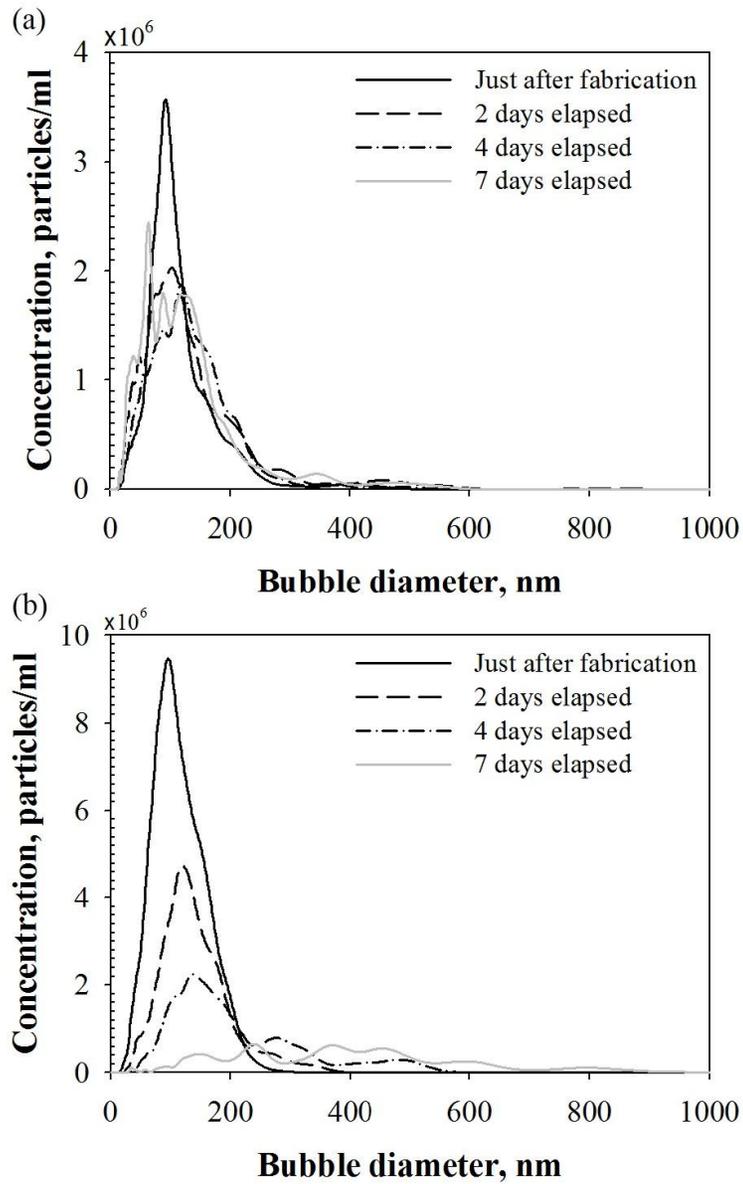


Fig. 3.10 Size distributions of nanobubbles fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator, versus time.

또한 기-액 혼합법을 통해 생성된 나노버블의 크기 분포를 시간 경과에 따라 나타낸 Fig. 3.10(b)에 나타냈으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 단분산계에서 다분산계로 변화하는 것을 확인할 수 있다. 그러나 감압 기법에서 생성된 나노버블의 크기 분포와 비교했을 때, 기-액 혼합을 통해 생성된 나노버블의 크기 분포는 시간이 경과함에 따라 모드 직경이 그래프의 우측으로 이동하며 모드 직경의 높이 (개체수)가 점점 낮아지는 큰 차이점이 나타난다. 이는 시간이 경과함에 따라 나노버블과 증류수 사이에 물질 전달 (확산)이 일어나는 것에 기인한다.

일반적으로 상대적으로 큰 입자는 작은 입자에 비해 에너지 측면에서 더욱 안정하다. 또한 계는 계의 에너지를 줄이려고 하기 때문에 작은 입자의 표면에 존재하는 분자는 입자로부터 떨어져 나와 용액을 통해 확산되려고 한다. 최종적으로 떨어져 나와 확산된 분자는 큰 입자의 표면에 결합되어 흡수된다. 그러므로 큰 입자의 크기는 더욱 커지는 반면, 작은 입자는 점점 작아져 사라지게 된다 [65]. 따라서 Fig. 3.10(b)에서 나타난 크기 분포의 변화 경향은 상대적으로 작은 나노버블들의 표면에 떨어져 기체 분자가 큰 나노버블에 결합되어 직경이 200 nm 이상인 나노버블의 개체수가 점점 증가하는 것에 기인함을 알 수 있다. 결과적으로 7 일이 경과할 경우, 초기에는 존재하지 않았던 나노버블 (직경: 약 800 nm)이 나타난다.

이에 더하여 경과 시간별 나노버블의 크기 분포와 식 (2.5), (2.6)을 이용해 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경을 계산했으며, 감압과 기-액 혼합 기법에 의해 생성된 나노버블의 시간 경과에 따른 개체수 변화를

Fig. 3.11 에 나타냈다. Fig. 3.11(a)에서 볼 수 있듯이, 감압에 의해 생성된 나노버블의 개체수는 시간 경과에 무관함을 알 수 있으며, 생성 직후 및 7 일 경과 후에 측정된 나노버블의 개체수는 각각 $2.71 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 와 $2.63 \pm 0.74 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났다. 그러나 기-액 혼합에 의해 생성된 나노버블은 시간이 경과함에 따라 사라지며 (Fig. 3.11(b)), 생성 직후에 측정된 나노버블의 개체수는 $9.38 \pm 1.51 \times 10^8$ particles/ml 이었지만, 7 일이 경과한 뒤에 $2.62 \pm 0.63 \times 10^8$ particles/ml 으로 감소했음을 확인할 수 있다.

또한 감압과 기-액 혼합 기법에 의해 생성된 나노버블의 시간 경과에 따른 평균 직경 변화를 Fig. 3.12 에 나타냈다. 감압에 의해 생성된 나노버블의 평균 직경은 시간 경과에 무관함을 알 수 있으며, 생성 직후 및 7 일 경과 후에 측정된 나노버블의 평균 직경은 각각 120.67 ± 14.57 nm, 124.67 ± 17.93 nm 로 나타냈다. 그러나 기-액 혼합에 의해 생성된 나노버블의 평균 직경은 시간이 경과함에 따라 증가하며 (Fig. 3.12(b)), 생성 직후에 측정된 나노버블의 평균 직경은 114.50 ± 13.44 nm 였지만, 7 일이 경과한 뒤에 367.67 ± 49.80 nm 로 증가했음을 확인할 수 있다. 한편 Fig. 3.12 에 회색 바로 나타낸 모드 직경의 변화는 앞서 평균 직경에서 확인한 것과 동일한 경향이 나타났다.

이러한 결과는 생성된 나노버블이 상당히 안정하다는 것을 의미하며, 비슷한 연구 결과가 Ushikubo et al. [60]와 Liu et al. [14]에 의해 발표된 바 있다. Ushikubo et al. [60]은 산소 기체를 이용해 나노버블을 생성하고, 동적 광산란 기법을 통해 생성된 나노버블이 6 일간 존재했음을 보고했다. 또한 Liu et al. [14]은 질소 기체로 생성된 나노버블의 수명이 7 일이었다고 보고했으며,

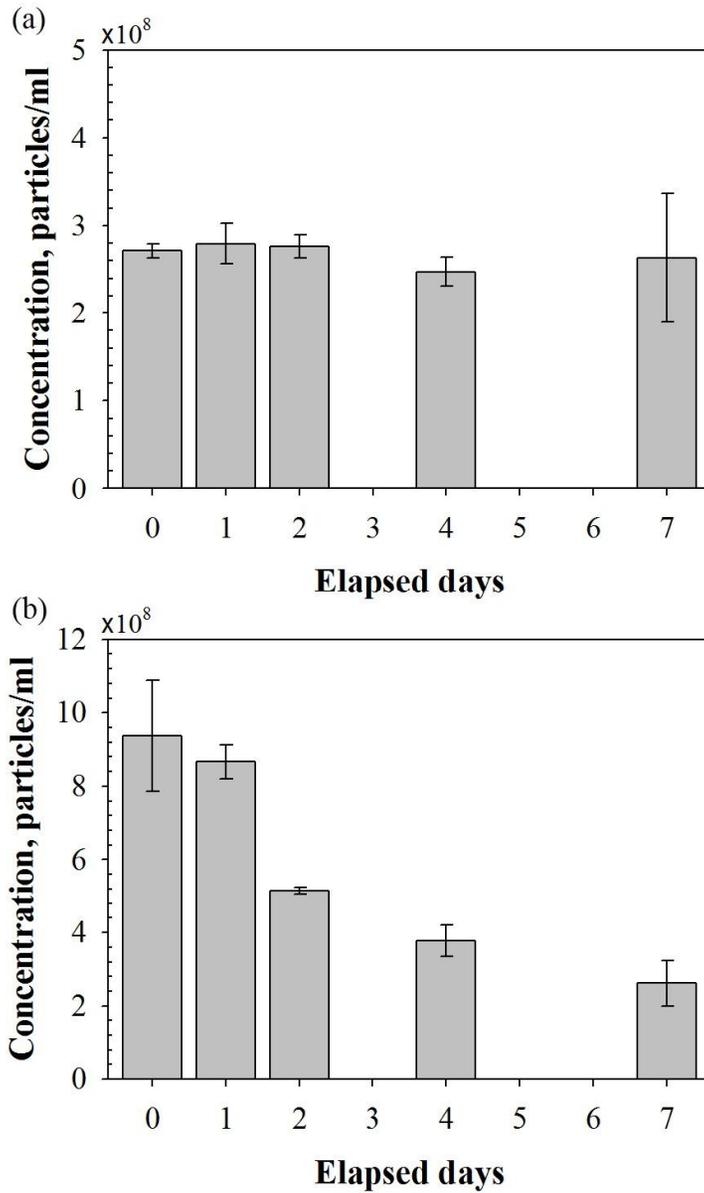


Fig. 3.11 Time evolution of nanobubble concentration in water (a) bubbles fabricated by Decompression type generator (b) bubbles fabricated by Gas-liquid mixing type generator.

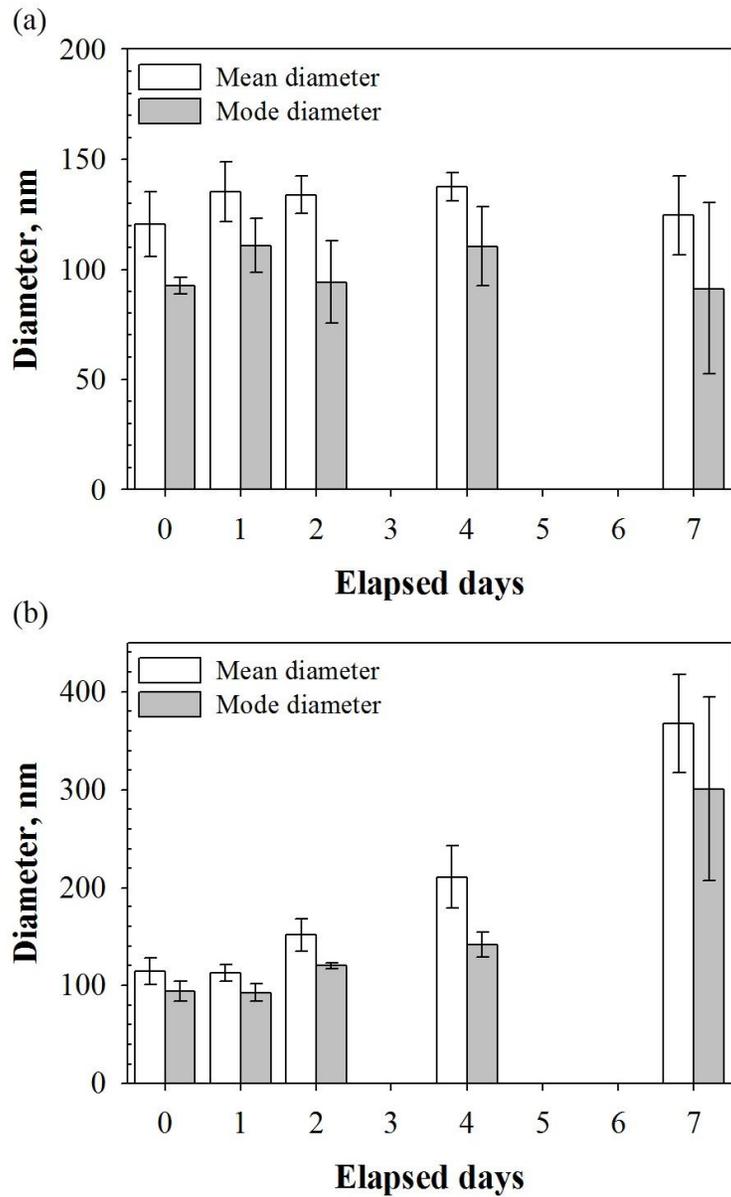


Fig. 3.12 Time evolution of nanobubble diameter in water (a) bubbles fabricated by Decompression type generator (b) bubbles fabricated by Gas-liquid mixing type generator.

생성된 나노버블은 0.02 MPa 조건의 탈기 과정을 거치더라도 완전히 사라지지 않음을 보여주었다. 그러나 Ljunggren 과 Eriksson [66]의 연구 결과에 따르면 나노버블의 수명은 극히 짧으며, 이는 식 (3.2)로부터 알 수 있다.

$$t = \frac{Hd_0^2}{12RTD} \quad (3.2)$$

여기에서 H 는 앙리 법칙 (Henry law) 상수, d_0 는 버블의 초기 직경, R 은 기체 상수, T 는 온도, D 는 확산 계수를 나타낸다.

그러므로 감압과 기-액 혼합 기법으로부터 생성된 나노버블의 수명은 각각 41.88 μ s 와 37.71 μ s 일 것으로 예상할 수 있다 ($H=3.85 \times 10^5$ J/mol [67], $d_0=120.67$ nm, 114.50 nm, $R=8.314$ J/(K·mol), $T=298.15$ K, $D=4.50 \times 10^{-9}$ m²/s 사용). 앞서 계산된 나노버블의 수명은 Fig. 3.11 에서 확인한 나노버블의 수명 (최소 7 일)에 비해 현저히 작으며, 이로부터 생성된 나노버블 내 기체가 버블 주변의 증류수로 확산되는 것을 억제하는 인자가 있음을 알 수 있다. 비슷하게, Ohgaki et al. [68]은 적외선 분광 분석법 (attenuated total reflectance infrared spectroscopy)을 통해 나노버블의 계면은 강한 수소 결합 (hard hydrogen bond)들로 구성되어 있음을 밝혔으며, 저자들은 이와 같은 강한 수소 결합의 존재 덕분에 나노버블로부터 주변 액체로 이동하는 기체 확산이 눈에 띄게 감소될 수 있다고 결론지었다.

따라서 나노버블의 극히 작은 부력, 표면의 강한 수소 결합을 고려했을 때, 나노버블의 뛰어난 안정성은 버블간 상호 작용 (충돌 및 융합 거동)에 지배적인 영향을 받을 것이며 이는 제타 전위를 통해 설명할 수 있다 [22, 60]. 이를 위해 시간 경과에 따른 제타 전위를 측정했으며, 획득한 결과를 Fig. 3.13 에 나타냈다. 7 일간 측정된 제타 전위의 평균 값은 감압 및 기-액 혼합을 이용한 생성 기법에서 각각 -22.85 ± 4.77 mV 와 -20.43 ± 4.30 mV 로 나타났다. 감압 기법에서 생성된 나노버블의 경우, 생성 직후 -30.51 ± 0.82 mV 로 안정한 상태이지만, 1~7 일 동안 약 -20 mV 를 유지하면서 불안정해지려는 단계임을 알 수 있다. 그러나 기-액 혼합 기법에서 생성된 나노버블의 생성 직후 제타 전위는 -24.01 ± 1.96 mV 로써 불안정성이 발생하기 시작한 단계이며, 시간이 경과함에 따라 제타 전위의 절대값이 점점 감소하여 7 일 경과 후의 제타 전위는 -13.72 ± 0.84 mV 로 측정됐다. 따라서 7 일 동안 나노버블들 사이에 작용하는 척력이 점점 작아지고 있으며, 이러한 제타 전위의 변화는 개체수와 동일한 경향을 보이고 있음을 알 수 있다. 결과적으로 감압 기법으로부터 생성된 나노버블의 제타 전위는 비교적 일정하게 유지되어 버블들이 안정한 반면, 기-액 혼합 기법으로부터 생성된 나노버블의 제타 전위는 시간 경과에 따라 감소해 버블들이 상대적으로 불안정함을 알 수 있다. 이와 비슷하게, Ushikubo et al. [60]은 나노버블의 장기 안정성은 전기적으로 대전된 기-액 계면의 존재에 기인할 것이라고 결론지었으며, 이는 나노버블의 충돌 및 융합을 억제하는데 기여할 것이라고 언급한 바 있다. 이에 더하여 저자들은 물의 높은 용존 기체 농도 역시

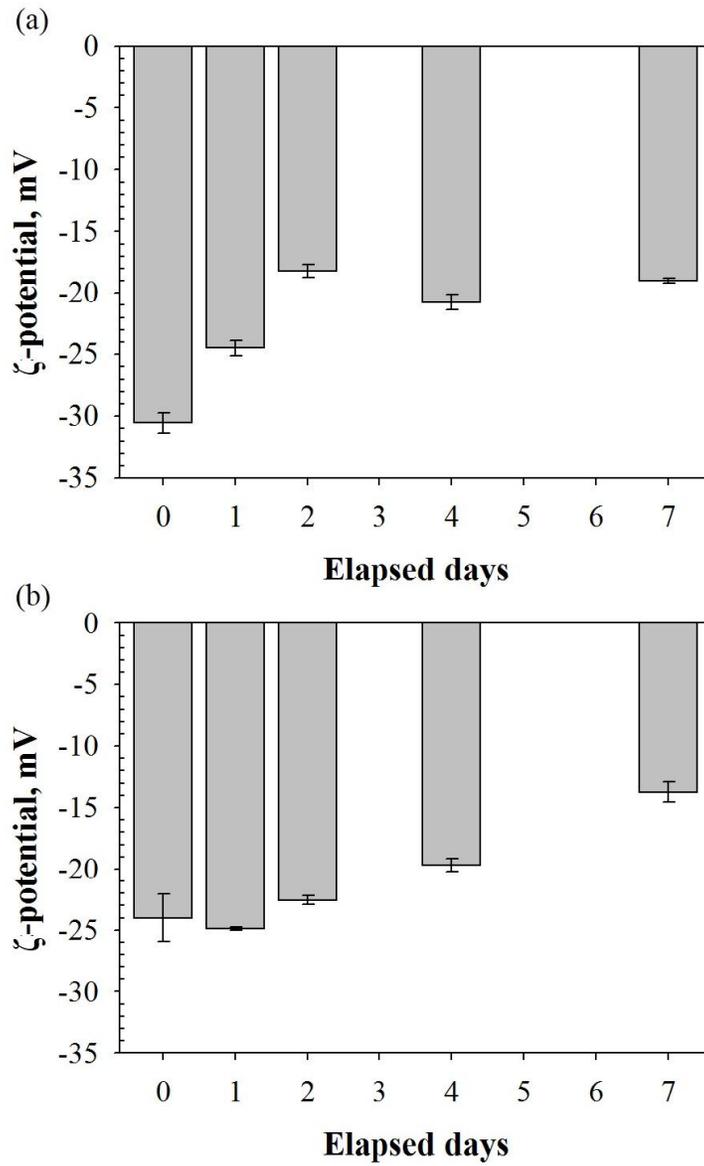


Fig. 3.13 Measured ζ -potential of nanobubble water fabricated by (a) Decompression type generator (b) Gas-liquid mixing type generator.

나노버블의 안정성을 설명할 수 있는 인자로 꼽았으며, 초기 용존 기체 농도가 높을수록 나노버블의 안정성이 향상될 것이라고 언급했다. 그러므로 감압 기법을 통해 생성된 나노버블들이 기-액 혼합을 통해 생성된 나노버블에 비해 크게 안정한 것은 고압 조건에서 생성되어 나노버블 수의 초기 용존 기체 농도가 높고 제타 전위의 절대값이 큰 것에 기인한다고 정리할 수 있다.

한편 기-액 혼합 기법으로부터 생성된 나노버블들은 상대적으로 불안정했으며, 시간 경과에 따른 개체수 감소 및 직경 증가 경향이 분명하게 나타났다 (Fig. 3.11(b), 3.12(b)). 그러나 생성된 나노버블의 음전하로 대전된 표면 및 이로 인한 버블간 척력 발생 및 충돌/융합 억제와 이웃하는 나노버블 사이의 거리와 나노버블 직경의 비가 10 이상인 것을 고려했을 때 [69], 나노버블들이 서로 충돌 및 융합해 직경이 증가 (Smoluchowski ripening)할 가능성은 매우 낮을 것임을 알 수 있다. 따라서 Ostwald ripening 이 나노버블 성장 및 개체수 감소의 주된 메커니즘이 된다. Ostwald ripening 은 상대적으로 큰 입자는 성장하는 반면 작은 입자는 수축되는 현상을 일컫는 말이며, 상대적으로 작은 입자에서 떨어져 나온 분자는 확산되어 큰 입자에 결합된다. 또한 Ostwald ripening 은 Kelvin 효과의 직접적인 결과물이며 [70, 71], Kelvin 방정식 (Kelvin equation)에 따르면, 입자의 용해도는 입자의 크기가 작아질 경우 현저하게 증가한다.

$$S(r) = S(\infty) \exp\left(\frac{2\gamma V_m}{rRT}\right) \quad (3.3)$$

여기에서 $S(r)$ 은 반지름이 r 인 입자 주변에 존재하는 매질의 용해도, $S(\infty)$ 은 용해도, γ 은 계면 장력, V_m 은 분산된 입자의 몰 부피 (molar volume), R 은 기체 상수, T 는 온도를 나타낸다.

따라서 Kelvin 방정식으로부터 상대적으로 작은 입자는 큰 입자보다 더욱 잘 녹는다는 사실을 알 수 있으며, 이와 같은 용해도 차이에 의해 상대적으로 작은 입자를 구성하는 분자는 입자에서 떨어져 나와 용액 내로 확산되는 반면, 큰 입자는 작은 입자에서 떨어져나온 분자를 흡수해 성장한다. 결과적으로 작은 입자의 수는 감소하는 반면, 큰 입자의 수는 증가한다. 이러한 경향은 Fig. 3.10(b), 3.11(b), 3.12(b)에 잘 부합한다. 더욱이 이러한 입자 성장은 미소 규모의 (microscale) 기-액계에서도 일어나며, Talu et al. [72]은 초기에 단분산계였던 마이크로버블 용액에서 Ostwald ripening 이 일어날 수 있음을 보고한 바 있다.

한편 많은 연구자들이 입자의 크기 분포와 조대화 메커니즘 사이의 관계를 밝히고자 노력해왔으며 [73-77], 이러한 연구들은 크기 분포 그래프의 형상 (분포가 좌우로 치우친 정도)이 조대화 메커니즘을 분류할 수 있는 기준이 될 수 있음을 보여주었다. Granqvist et al. [75]은 입자의 크기 분포가 우측으로 치우쳤을 때 (negative skewed size distribution), Ostwald ripening 이 나타난다고 보고한 바 있다. 그러나 좌측으로 치우친 크기 분포 (positive skewed size distribution)는 Smoluchowski ripening 이 일어나는 계의 특징이라고 언급했다. 이와 같은 사실을 고려했을 때, 좌측으로 치우친 크기 분포를 갖는

기-액 혼합 기법으로부터 생성된 나노버블 수에서는 Smoluchowski ripening 이 일어날 것임을 예상할 수 있다.

그러나 이웃하는 나노버블 사이의 먼 거리와 대전된 나노버블의 표면은 Smoluchowski ripening 을 억제하며, 좌측으로 치우친 크기 분포가 나타남에도 불구하고 Ostwald ripening 이 두드러지게 나타날 수 있다는 연구 결과가 보고된 바 있다 [76-78]. 대표적으로 Datye et al. [77]는 금속 촉매를 900 °C 에서 열처리하고 투과 전자 현미경 (transmission electron microscope), 전자 현미경 (scanning electron microscope), 주사 투과 전자 현미경 (scanning transmission electron microscope)을 이용해 시간 경과에 따른 크기 분포를 획득한 뒤, 좌측으로 치우친 크기 분포가 시스템의 입자 성장 메커니즘이 Ostwald ripening 이 아니라고 결정하는데 사용될 수 없다고 결론지었다.

(ii) 가솔린 내 나노버블의 안정성: 증류수에 생성된 나노버블의 안정성을 조사한 것과 동일하게, 가솔린에 생성된 나노버블의 안정성을 조사하기 위해 상온, 상압에서 보관한 나노버블 혼합 가솔린을 시간 경과에 따라 입도 분석했다. 입도 분석은 121 일간 진행되었으며 획득한 결과를 Fig. 3.14 과 3.15 에 나타냈다.

나노버블의 직경 및 개체수 변화를 조사하기 위한 시간 경과에 따른 크기 분포를 Fig. 3.14 에 나타냈다. Fig. 3.14 에서 볼 수 있듯이, 생성 직후, 가솔린 내 나노버블의 크기 분포는 하나의 주요 피크를 갖는다. 그러나 시간이

경과하면서 주요 피크 근처에 추가 피크가 나타나면서 다분산계로 변화하는 경향이 나타난다.

또한 경과 시간별 나노버블의 크기 분포와 식 (2.5), (2.6)을 이용해 생성된 나노버블의 개체수와 평균 직경을 계산했으며, 생성된 나노버블의 시간 경과에 따른 개체수 및 평균 직경 변화를 Fig. 3.15 에 나타냈다. Fig. 3.15(a)에서 볼 수 있듯이, 감압에 의해 가솔린 내에 생성된 나노버블의 개체수는 시간 경과에 무관함을 알 수 있으며, 생성 직후, 67 일 및 121 일 경과 후에 측정된 나노버블의 개체수는 각각 $11.25 \pm 2.77 \times 10^8$ particles/ml, $10.45 \pm 2.21 \times 10^8$ particles/ml, $10.87 \pm 0.64 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났다. 한편 시간 경과에 따른 평균 직경을 Fig. 3.15(b)에 나타냈으며, 생성 직후, 76 일 및 121 일 경과 후 측정된 평균 직경은 각각 159.00 ± 31.91 nm, 200.67 ± 46.88 nm, 146.80 ± 8.11 nm 로 계산되었다. 따라서 나노버블의 평균 직경은 증가 후 감소하는 것으로 보인다. 그러나 본 연구에서 사용한 평균 직경은 산술평균직경 (arithmetic mean diameter)이며, 이 평균 직경은 상대적으로 큰 입자가 계에 추가될 경우, 큰 영향을 받는다. 이와 같은 사실을 고려했을 때 통계 분석을 통해 시간 경과에 대한 평균 직경 변화 경향을 살펴보아야할 필요성이 있음을 알 수 있다. 이를 위해 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)을 수행했으며, P-value 는 0.083 으로 계산되었다. 이는 유의 수준인 0.05 보다 크며, 따라서 시간 경과에 대한 평균 직경에 무관함을 알 수 있다. 이와 비슷하게 개체수에 대한 일원배치 분산분석을 통해 P-value 는 0.867 로 계산되었으며, 이는 유의 수준인 0.05 보다

크다. 그러므로 개체수와 평균 직경은 시간 경과에 영향을 받지 않는다고 결론지을 수 있다.

이러한 나노버블의 뛰어난 안정성은 오랫동안 논란이 되어 왔다. 식 (1.2)에 나타낸 Young-Laplace 방정식으로부터 가솔린 내 나노버블의 내압은 451.77 kPa ($d=159$ nm, $\sigma=13.93$ mN/m 사용)로 계산되며, 이와 같은 높은 내압을 지닌 버블은 빠른 시간 안에 사라져야만 한다. 그러나 많은 연구자들이 나노버블은 액체 내에 분산되어 장기간 존재할 수 있다는 결과를 보여주었으며 [60, 79], 이를 설명하기 위해 다음과 같은 3 가지 가설을 세웠다.

- (1) 나노버블은 평형 상태 (equilibrium state)에 도달하지 못했으며 매우 느리게 평형 상태에 이르고 있는 준안정 상태 (metastable state)이거나,
- (2) 일정한 크기의 나노버블이 과포화 용액에 분산되어 있을 경우, 평형 상태를 유지하거나,
- (3) 나노버블의 표면 장력은 계면 곡률과 내부 압력에 큰 영향을 받으므로 Young-Laplace 방정식은 나노버블에 대해 적용이 불가능하다.

이에 더하여 나노버블의 부력은 무시할 만큼 작으며, 일반적으로 직경이 5 μm 이하인 버블은 부상하지 않는 것으로 알려져 있다. 이는 부력의 크기가 용액 내에 존재하는 어떤 흐름 (current)의 크기보다 작기 때문이다. 따라서

버블 간 척력 및 이 외의 이웃하는 버블들 사이에 작용하는 힘이 나노버블의 안정성에 지배적인 영향을 미치게 된다 [1]. 따라서 121 일간 나노버블 혼합 가솔린의 제타 전위를 측정했으며, 획득한 결과를 Fig. 3.16 에 나타냈다. Fig. 3.16 에서 볼 수 있듯이, 순수한 가솔린의 제타 전위가 17.05 ± 7.68 mV 로 측정된 것에 반해, 나노버블 혼합 가솔린에서 121 일간 측정된 제타 전위의 평균 값은 -26.82 ± 8.22 mV 이다. 이를 통해 나노버블은 가솔린 내에 안정한 상태로 분산되어 있으며 표면이 음전하로 대전되어 있음을 알 수 있다. 또한 생성 직후, 76 일 및 121 일 경과 후의 제타 전위는 각각 -28.02 ± 7.96 mV, -23.38 ± 4.17 mV, -27.90 ± 10.41 mV 로 측정되었으며, 측정 기간 동안 거의 일정하게 유지됨을 알 수 있다.

Somasundaran [80]는 분산된 입자의 안정성을 판단하는 기준이 되는 제타 전위의 절대값은 30 mV 라고 발표한 바 있다. 이와 같은 높은 제타 전위는 나노버블의 융합을 막고 버블의 안정화에 기여할 수 있는 척력의 존재를 나타낸다. 그러므로 가솔린 내에 생성된 나노버블들은 전기적으로 대전된 버블의 표면에 의해 안정화되었다고 판단할 수 있다. 이와 동일하게, Ushikubo et al. [60]도 나노버블의 장기적 관점에서의 안정성은 그들의 대전된 표면에 기인한 척력이 버블의 융합을 억제하기 때문에 나타날 수 있다고 결론지었다.

한편 수용성 용매에서의 안정화 메커니즘은 이온성 분산제 (ionic dispersant)와 연관되어 있다. 분산제는 용액에서 이온화되어 흡착가능한 음이온 (anion) 및 양이온 (cation)과 이 외의 전위를 결정할 수 있는 이온들을 제공한다. 따라서 분산제에서 발생한 이온들과 기존부터 존재하던 이온들은

입자 표면에 흡착되어 표면을 대전시키고, 이웃하는 입자들 사이에 척력을 발생시키게 된다. 그러나 가솔린과 같은 비수용성 용매의 경우, 분산제가 이온화될 수 없으므로 음이온과 양이온의 흡착이 적절한 메커니즘이 될 수 없다.

비록 알켄, 가솔린과 같이 유전 상수가 2 밖에 되지 않는 비수용성 용매에서는 전해질이 이온화되지 않지만 용매 내에 분산된 입자들은 전하를 얻을 수 있다. 결과적으로 비수용성 용액에서도 정전기력이 입자 안정화에 주요한 역할을 하며 [81, 82], 비수용성 용액에서의 입자 대전 메커니즘은 이온의 흡착으로 설명된다 [83]. 이와 같은 이온은 용액 자체에서 공급될 수 있으며, 대표적으로 입자를 분산시키기 전부터 순수한 용매에 포함되어 있던 다른 유기 (organic) 또는 무기 (inorganic) 불순물일 수 있다. 또한 미량의 수분은 제타 전위의 크기와 부호를 결정하는데 지대한 영향을 미친다 [84]. 이에 더하여 의도적으로 첨가된 이온계 계면 활성제 (surfactant) 또는 안정제 (stabilizer)에 의해 이온이 발생할 수 있으며, 강한 전기장 (electric field) 하에서 발생하는 Debye-Falkenhagen 효과에 의해 이온 농도가 강화될 수도 있다 [85].

요약하면 비수용성 용매에서도 이온의 흡착에 의한 입자 대전이 일어날 수 있으며, 실제로 나노버블 혼합 가솔린의 제타 전위는 -30 mV 정도의 큰 값이 나타났다. 또한 시간 경과에 따른 제타 전위 측정을 통해 제타 전위가 121 일간 거의 일정하게 유지됨을 확인했다. 이를 통해 음전하로 대전되어 있는 나노버블 사이에서 발생하는 척력에 의해 가솔린 내 나노버블들의 충돌 및 융합이 억제되어 안정할 수 있음을 알 수 있다.

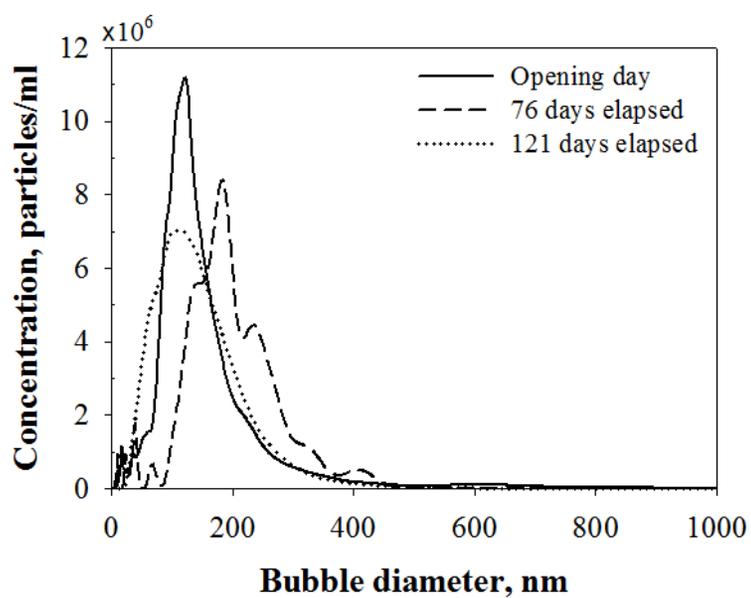


Fig. 3.14 Size distributions of nanobubbles in gasoline versus time.

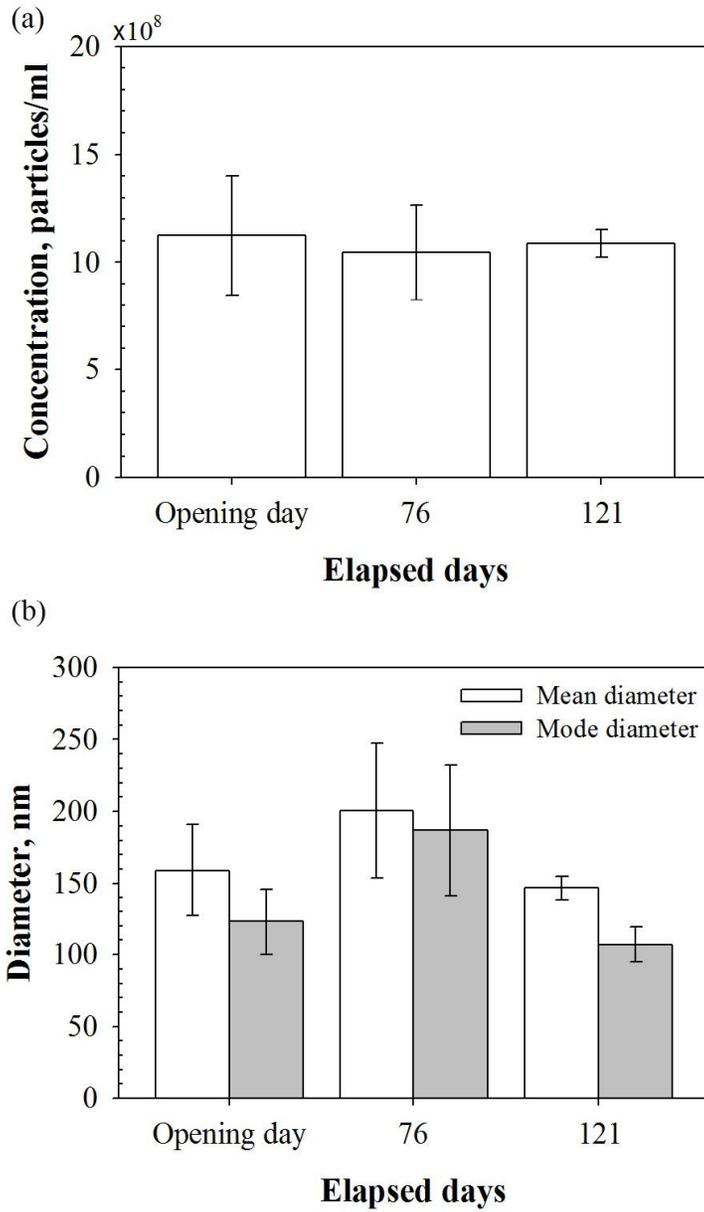


Fig. 3.15 Particle analysis results obtained from nanobubble gasoline blend

(a) concentration (b) mean and mode diameter.

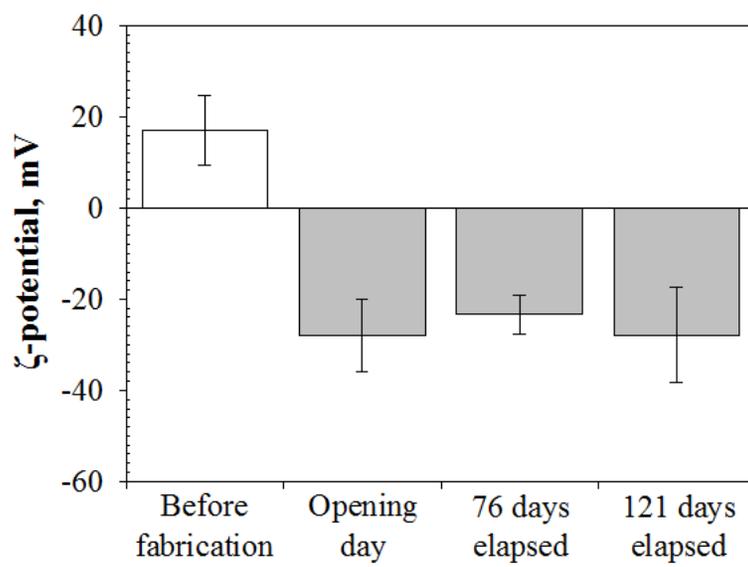


Fig. 3.16 Measured ζ -potential of nanobubble gasoline blend.

3.4 요약

본 장에서는 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수와 가솔린에 생성된 나노버블의 안정성을 조사했다. 이를 위해 시간 경과에 따른 입도 분석과 제타 전위 측정을 수행했으며, 본 장에서 획득한 결과들은 다음과 같이 열거할 수 있다 (Table. 3.3, 3.4).

- (1) 생성 기법은 용매의 종류에 의존하는 나노버블 생성 결과를 나타냈으며, 기-액 혼합을 이용한 생성 기법으로 가솔린 내에 나노버블을 생성시킬 수 없었다.
- (2) 생성된 나노버블은 이론 결과에 비해 뛰어난 안정성을 나타냈으며, 감압 기법에서 생성된 나노버블이 기-액 혼합 기법에서 생성된 나노버블에 비해 현저히 뛰어난 안정성을 보였다 (나노버블 수: 최소 7 일, 나노버블 혼합 가솔린: 최소 121 일). 이는 감압 기법을 통해 생성된 나노버블 수와 나노버블 혼합 가솔린의 초기 용존 기체 농도가 높은 것에 기인한다.
- (3) 이와 같은 뛰어난 나노버블의 안정성은 시간 경과에 따라 측정된 제타 전위를 이용해 설명할 수 있다. 측정된 제타 전위는 약 -30 mV 로 나타났으며, 이는 학계에서 발표된 안정한 용액을 판단하는 기준에 해당한다. 높은 제타 전위를 갖는 용액 내에 분산된 나노버블들의 표면은

음전하로 대전되어 있으며, 이로 인해 발생하는 척력에 의해 버블간 충돌 및 융합이 억제되므로 나노버블들이 안정하게 장시간 동안 분산되어 있을 수 있다.

(4) 또한 기-액 혼합 기법을 통해 생성된 나노버블의 시간 경과에 따른 입도 분석 결과, 나노버블 사이의 거리와 나노버블 직경의 비, 제타전위 측정 결과로부터 나노버블은 Ostwald ripening 을 거쳐 사라짐을 알 수 있다.

이러한 사실들로부터 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법은 안정하게 분산된 수억 개의 나노버블을 생성하는데 유효함을 알 수 있다. 특히 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법은 고속으로 10.0×10^8 particles/ml 수준의 개체수를 갖는 나노버블 수를 생성하는데 유리하다. 그러나 액체의 종류에 무관하게 적용 가능하며, 생성된 나노버블의 안정성이 현저하게 뛰어난 감압 기법이 더욱 뛰어난 나노버블 생성 기법이라는 결론을 얻을 수 있다.

Table. 3.3 Stability of nanobubbles in water.

Item	Nanobubble generation method		
	Decompression	Gas-liquid mixing	
Just after fabrication	Mode diameter, nm	92.67±3.79	94.00±9.90
	Mean diameter, nm	120.67±14.57	114.50±13.44
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	2.71±0.08	9.38±1.51
	ζ-potential, mV	-30.51±0.82	-24.01±1.96
2 days elapsed	Mode diameter, nm	94.33±18.77	120.00±2.83
	Mean diameter, nm	134.00±8.49	151.33±16.62
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	2.76±0.13	5.15±0.10
	ζ-potential, mV	-18.20±0.55	-22.55±0.39
4 days elapsed	Mode diameter, nm	110.67±18.01	141.33±12.74
	Mean diameter, nm	137.67±6.43	211.00±32.08
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	2.47±0.17	3.77±0.43
	ζ-potential, mV	-20.74±0.62	-19.67±0.52
7 days elapsed	Mode diameter, nm	91.50±38.90	301.00±93.34
	Mean diameter, nm	124.67±17.93	367.67±49.80
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	2.63±0.74	2.62±0.63
	ζ-potential, mV	-19.01±0.20	-13.72±0.84

Table. 3.4 Stability of nanobubbles in gasoline.

	Item	Nanobubble generation method	
		Decompression	Gas-liquid mixing
Just after fabrication	Mode diameter, nm	123.00±23.02	-
	Mean diameter, nm	159.00±31.91	-
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	11.25±2.77	-
	ζ-potential, mV	-28.02±7.96	-
76 days elapsed	Mode diameter, nm	187.00±45.51	-
	Mean diameter, nm	200.67±46.88	-
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	10.45±2.21	-
	ζ-potential, mV	-23.38±4.17	-
121 days elapsed	Mode diameter, nm	107.00±11.98	-
	Mean diameter, nm	146.80±8.11	-
	Concentration, ×10 ⁸ particles/ml	10.87±0.64	-
	ζ-potential, mV	-27.90±10.41	-

제 4 장 나노버블의 열적 안정성

4.1 서론

나노버블은 다양한 분야에 응용가능할 것으로 예측되고 있으며, 이러한 응용 분야들 중 일부는 온도의 상승이 동반된다. 영상의학 분야 (나노버블의 초음파 반사를 이용한 조영제)에서는 나노버블이 인체 내로 주입되어 버블 주변 매질의 온도가 상승하며, 세정 분야 (나노버블의 음전하로 대전된 표면을 이용한 이물질 제거)에서는 온수 세정 공정에 의해 버블 주변 매질의 온도가 상승한다.

특히 조영제로써 나노버블이 응용될 경우, 반사되는 음파는 나노버블 크기에 의존하며, 여러 연구자들에 의해 나노버블의 크기와 크기 분포를 조절함으로써 조영제로써의 성능이 향상될 수 있음이 입증된 바 있다 [5, 86-89]. Talu et al. [86]는 단분산계에서 다분산계에 비해 더욱 균일한 크기의 반사음 (echo)이 발생되며, 반사음의 대비 역시 단분산계에서 더욱 크게 나타남을 보여주었다. 이 외에도 버블의 크기는 공진 주파수를 결정짓기 때문에 중요한 설계 변수가 된다. 그러나 나노버블은 기체로 충전되어 있기 때문에 주변 환경의 변화 (압력, 온도)에 의해 직경, 크기 분포, 개체수가 변할 수 있으며, 이는 나노버블이 응용된 계의 성능 저하로 이어질 수 있다. 따라서

이러한 나노버블의 가능성을 완전하게 이용하기 위해서는 온도 변화에 따른 나노버블 개체수 및 직경의 변화에 대한 이해가 필수적이다.

그러므로 본 연구에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 나노버블 수를 생성하고 나노버블 수와 증류수에 대한 가열 및 가열후 냉각 실험을 수행했다. 또한 가열 또는 냉각된 시료를 입도 분석함으로써 나노버블의 열에 대한 안정성을 조사했다.

4.2 실험 방법

4.2.1 실험 재료

본 연구에서는 나노버블 수를 생성하기 위해, 증류수 (No. 119, HPLC grade, Duksan Pure Chemicals Co., Korea)와 수소 기체 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)를 사용했다. 또한 상기 재료에 대한 추가적인 정화 작업을 수행하지 않고 제조사로부터 받은 그대로 사용했다.

4.2.2 증류수 내 나노버블 생성

감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 수를 생성했으며, 나노버블 생성 기법에 대한 자세한 내용은 2 장 3 절에 서술되어 있다. 그러나 열에 대한 나노버블의 거동을 세밀하게 조사하기 위해 공정 압력과 시간을 각각 20 %, 50 % 낮추어 적은 수의 나노버블을 생성했다.

4.2.3 입도 분석

본 연구에서는 정량적인 개체수를 획득할 수 있는 405 nm 레이저가 장착된 나노입자 추적 분석 장치 (NanoSight LM10-HSBFT14, Quantum Design Korea, Korea)를 이용해 나노버블에 대한 입도 분석을 수행했다. 입도 분석을 수행하기 위해 사용한 나노입자 추적 분석 기법 및 장치에 대한 자세한 내용은 2 장 2 절 2 항에서 서술되어 있다.

4.2.4 용존 산소 농도 측정

용존 산소 (dissolved oxygen)는 물 속에 용해되어 있는 산소 농도를 말한다. 본 연구에서는 나노버블 열적 안정성을 고찰하기 위해 용존 산소 농도를 측정했으며, 측정된 값을 통해 물 속에 녹아 있는 공기 농도를 예측했다. 용존 산소 농도는 용존 산소 농도 계측기 (SG6, Mettler-Toledo International Inc., Korea)를 통해 측정되었다.

용존 산소는 산소 분자만 투과시키는 격막으로 피복한 전극을 사용하는 격막 전극법 (membrane electrode method)에 의해 측정된다. 시료 중의 산소는 격막을 통과한 후에 전극 표면에 도달해 산화·환원 반응을 일으키며, 이로 인해 산소 농도에 비례하는 전류가 흐른다. 따라서 격막 전극법에서는 이 전류로부터 용존 산소 농도를 구하게 된다.

4.2.5 가열 실험

나노버블의 열에 대한 안정성을 조사하기 위해 나노버블 수에 대한 가열 실험을 수행했다. 이를 위해 비커에 20 ml 의 나노버블 수를 담고 가열한 뒤, 입도 분석을 수행했다. 또한 획득한 결과를 고찰하기 위해 증류수, 20 ml 를 이용해 가열 및 냉각을 반복했으며 자세한 실험 조건은 Table. 4.1 에 정리해 나타냈다. Table. 4.1 에 나타낸 온도 유지 시간은 해당 온도에 도달한 뒤, 온도를 유지하는 기간을 의미한다. 마지막으로 가열 실험 장치 구성의 모식도를 Fig. 4.1 에 나타냈다.

Table. 4.1 Experimental cases.

Item	Temperature, °C	Temperature holding time, min
Nanobubble water	40, 60, 80	5
DI water	40, 50, 60, 70, 80	5
	50	60

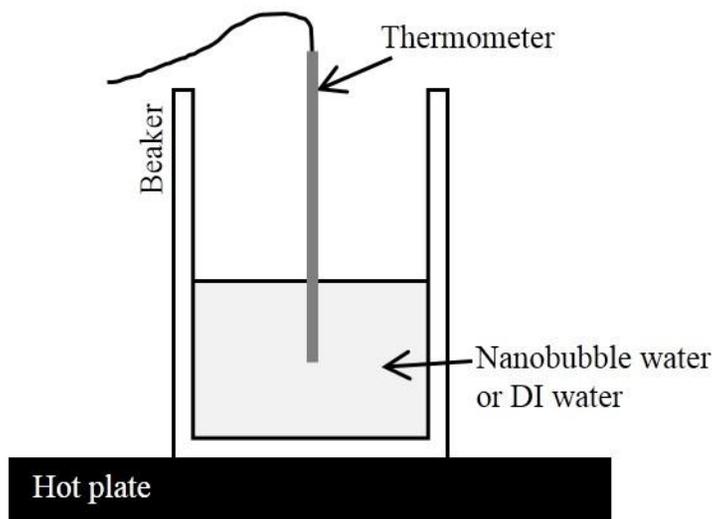


Fig. 4.1 A schematic view of experimental setup.

4.3 결과 및 고찰

본 장에서는 3 장에서 내린 결론으로부터 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 증류수 내에 나노버블을 생성하고 나노버블 수 및 증류수의 가열 및 가열 후 냉각 실험을 진행함으로써 나노버블의 열에 대한 안정성을 조사했다.

4.3.1 증류수 내 나노버블 생성

감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 수를 생성했으며, 생성 직후, 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 생성된 나노버블의 입도 분석을 수행했다. 획득한 결과를 Fig. 4.2 에 나타냈으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $0.36 \pm 0.07 \times 10^8$ particles/ml, 311.75 ± 106.98 nm, 220.00 ± 186.72 nm 로 측정되었다. 3 장에서 나노버블을 생성하기 위해 사용한 조건에 비해 줄어든 공정 압력과 시간으로 인해 핵생성이 줄어든 관계로 적은 수의 나노버블이 생성되었다.

4.3.2 나노버블의 열적 안정성

나노버블의 열적 안정성을 조사하기 위해 생성된 나노버블 수를 비커에 담고 40~80 °C 까지 가열한 샘플의 온도를 5 분간 유지시킨 뒤에 획득한 결과물을 입도 분석했다. 획득한 입도 분석 결과를 Fig. 4.3 에 나타냈으며, Fig. 4.3(a)는 가열한 나노버블 수에 존재하는 나노버블의 개체수를 나타낸다. 40 °C,

60 °C, 80 °C 로 가열한 뒤에 측정된 나노버블의 개체수는 각각 $0.57 \pm 0.03 \times 10^8$ particles/ml, $0.67 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml, $0.83 \pm 0.10 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났으며, 생성 직후에 측정된 $0.36 \pm 0.07 \times 10^8$ particles/ml 와 비교했을 때, 가열에 의해 나노버블의 개체수가 증가했음을 알 수 있다. 또한 이와 같은 나노버블 개체수 증가는 가열 온도에 의존하며, 온도가 높을수록 많은 수의 나노버블이 생성됨을 알 수 있다.

그러나 가열 이후에 측정된 평균 및 모드 직경을 생성 직후에 측정된 평균 직경 (311.75 ± 106.98 nm) 및 모드 직경 (220.00 ± 186.72 nm)과 비교했을 때, 유의미한 차이가 나타나지 않음을 알 수 있다 (Fig. 4.3(b)). 40 °C, 60 °C, 80 °C 로 가열한 뒤에 측정된 나노버블의 평균 직경은 363.50 ± 131.63 nm, 315.75 ± 41.82 nm, 293.25 ± 83.60 nm 로 나타났으며, 모드 직경은 221.67 ± 65.58 nm, 250.00 ± 35.22 nm, 199.50 ± 57.18 nm 로 측정되었다.

일반적으로, 온도가 상승할 경우, 증기압이 상승하며 버블 내 기체 역시 팽창하게 되므로 버블은 팽창하게 된다. 또한 상승한 온도에 의해 기체 용존도가 감소하며, 온도가 높아질수록 버블 주변 액체에 용존된 기체가 버블 내부로 확산되기 쉬워진다. 그러나 버블의 높은 내압을 고려할 경우, 버블은 액체 내로 녹아 사라지려는 경향을 가질 것으로 예상할 수 있다. 따라서 앞서 언급한 어떤 이유에서든 버블은 성장하거나 수축하여 사라질 것임을 예측할 수 있다. Webb et al. [90]는 버블 성장 및 수축에 관한 시간 의존적인 동적 거동이 버블 주변에서 일어나는 기체 분포의 작은 변화에도 매우 민감하게 영향을 받는다는 사실을 입증한 바 있다. 저자들은 버블의 거동이 직경에

의존하며, 온도가 상승될 경우, 직경이 감소하는 작은 버블, 팽창하는 큰 버블, 수축하다 팽창하는 중간 크기의 버블로 구분할 수 있다고 정리했다. 중간 크기의 버블은 초기에는 버블 내 기체가 물 속으로 확산되며 수축하지만, 온도가 높아지면 이 현상이 역전되어 버블이 오히려 팽창한다. 그러나 언급한 역전 현상은 특정 가열 한계점을 넘는 경우에만 발생하며, 이 값은 버블의 직경에 의존한다. Webb et al. [90]의 연구 결과에 따르면, 본 연구에서 생성한 나노버블은 작은 버블에 해당하며, 온도 증가에 의한 기체 팽창 및 버블 성장보다 높은 내압에 의한 기체 손실이 더 주요할 것으로 예측된다. 그러나 Fig. 4.3 에서 보았듯이, 버블의 직경은 온도에 의존하지 않음을 알 수 있으며, 이를 통해 생성된 나노버블 내 기체가 버블 주변의 증류수로 확산되는 것을 억제하는 인자가 있음을 알 수 있다. 이와 비슷하게, Ohgaki et al. [68]은 적외선 분광 분석법을 통해 나노버블의 계면은 강한 수소 결합들로 구성되어 있음을 밝혔으며, 강한 수소 결합은 나노버블에서 버블 주변의 액체로 이동하는 기체 분자의 확산을 감소시키는데 기여한다고 결론낸 바 있다.

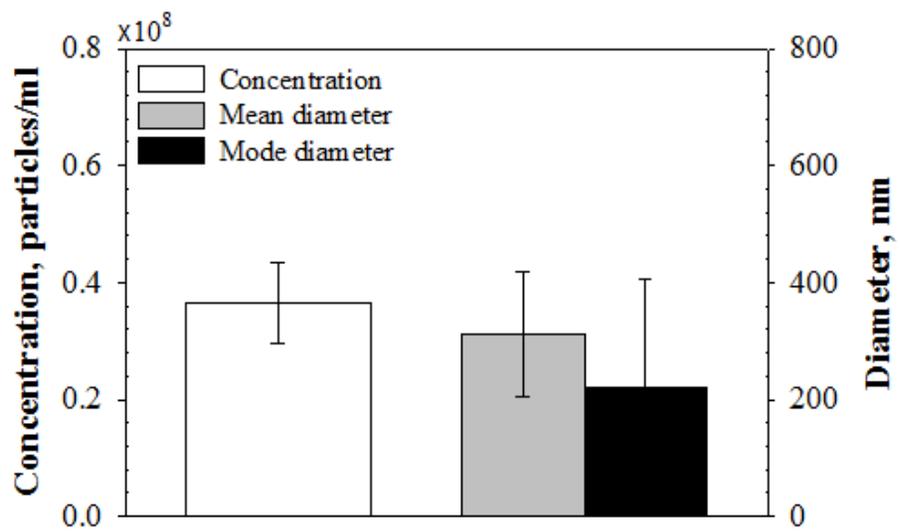


Fig. 4.2 Particle analysis results of nanobubble water, just after fabrication.

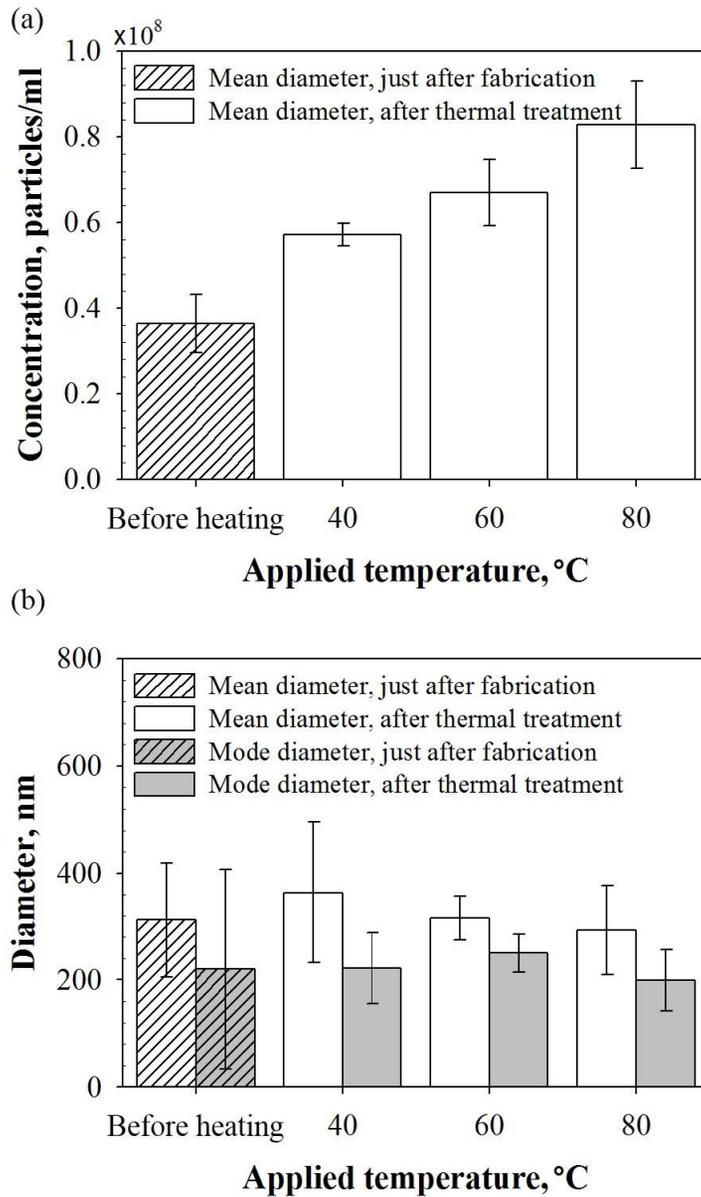


Fig. 4.3 Particle analysis results obtained from heated nanobubble water (a) concentration
(b) mean and mode diameter.

4.3.3 나노버블의 핵생성 (nanobubble nucleation) 안정성

4 절 3 항 2 절에서 나노버블 수에 포함된 나노버블의 개체수는 온도에 의존하며, 가열 온도가 증가할수록 크게 나타남을 확인했다. 이를 고찰하기 위해 증류수를 이용한 가열 실험을 수행했으며, 증류수를 비커에 담고 40~80 °C 까지 가열한 샘플의 온도를 5 분간 유지시킨 뒤에 획득한 결과물을 입도 분석했다. 획득한 입도 분석 결과를 Fig. 4.5 에 나타냈으며, Fig. 4.5(a)는 가열 직후, 증류수에 존재하는 나노버블의 개체수를 나타낸다.

가열 실험 전의 증류수에서는 아무런 입자도 찾을 수 없었으나 가열 실험 이후 나노 입자가 발생했음을 확인할 수 있다 (Fig. 4.4). 또한 Fig. 4.5(a)에서 볼 수 있듯이, 나노버블의 개체수는 가열 온도에 비례하며 각 온도 조건에서 획득한 개체수를 Table. 4.2 에 정리해 나타냈다. 40 °C 로 가열한 이후 측정된 나노버블의 개체수는 $0.14 \pm 0.01 \times 10^8$ particles/ml 인 것에 반해 80 °C 로 가열한 이후 측정된 나노버블의 개체수는 $1.03 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 로 측정되었다. 따라서 가열에 의해 개체수가 증가했음을 알 수 있다.

한편 Fig. 4.5(b)에서 볼 수 있듯이, 생성된 나노버블의 평균 및 모드 직경은 200 nm 이하의 값을 가지며, 각 온도에 대한 평균 및 모드 직경 값을 Table. 4.2 에 정리해 나타냈다. 가열 온도가 직경에 미치는 영향을 조사하기 위해 일원배치 분산분석을 수행했으며, 평균 및 모드 직경에 대해 획득한 P-value 는 각각 0.058 과 0.174 로 계산되었다. 획득한 P-value 의 값이 모두 유의 수준인 0.05 보다 크므로 가열 온도 변화는 평균 직경 및 모드 직경에 유의미한 영향을 미치지 못함을 알 수 있다.

나노버블의 핵생성은 일반적으로 온도가 상승할 때 발생하는 것으로 알려져 있다 [20, 91-94]. Najafi et al. [20]은 핵생성을 이용해 물 속에 직경이 230 nm 인 나노버블을 생성한 바 있다. 저자들은 8 °C 의 낮은 온도에서 24 시간 동안 기체를 흘려 공기로 과포화된 물을 준비한 뒤, 이 과포화 용액의 온도가 23 °C 에 도달할 때까지 급격하게 가열했다. 높은 온도에서는 기체 용해도가 낮으므로 다량의 기체가 물 속에 녹아 있을 수 없으며, 결과적으로 가열된 물 내에 나노버블의 핵이 생성된다.

그러나 본 연구에서 사용한 증류수의 용존 산소 농도는 8.04 ± 0.48 mg/l 로 측정되었으며, 질소와 산소의 확산 계수가 거의 같음 ($D_{N_2} = 2.0 \times 10^{-9}$ m²/s, $D_{O_2} = 2.4 \times 10^{-9}$ m²/s)을 고려했을 때 [95], 용존 산소 농도를 통해 용존 공기 농도를 대략적으로 예측할 수 있다. 결과적으로 증류수는 공기로 과포화되지 않은 상태이며, 이는 과포화된 용액이 나노버블 핵생성에 필요한 전제조건이 아님을 보여준다. 이와 동일한 현상은 가열된 기관에서 일어나는 비균질 핵생성 (heterogeneous nucleation)에 의한 표면 나노버블 생성에서도 관측된다. Seddon et al. [96]은 물 속에 잠긴 기관에서 일어나는 나노 크기의 기체 핵생성을 연구했으며, 나노버블의 생성이 기체 용존 농도와 온도에 의존하고 특정 범위의 기체 용존 농도와 온도 조건에서만 일어남을 보고한 바 있다. 또한 저자들은 나노버블이 생성되는 영역 아래 (낮은 기체 용존 농도 및 가열 온도)에서는 핵생성이 전혀 일어나지 않은 반면, 영역 위에서는 마이크로

너비를 갖는 거대한 기체 버블이 생성됨을 확인하고, 이를 통해 용존 기체의 과포화 조건이 버블의 핵생성에 필요한 전제조건이 아님을 입증했다.

본 연구에서는 과포화 상태가 아닌 증류수를 가열함으로써 나노버블을 생성시켰으며, 가열 온도가 높을수록 더욱 많은 수의 나노버블이 생성될 수 있음을 확인했다. 따라서 본 현상은 가열에 의해 물 속에 존재하는 공동(cavity)으로 용존 기체가 확산되어 일어난 것으로 예상된다. 물 속에 존재하는 공동은 기존에 밝혀진 사실이며, 몇몇 연구자들은 분자 동역학 (molecular dynamics) 또는 몬테 카를로 (Monte Carlo) 기법을 통해 액체 내에 존재하는 공동의 크기 분포를 결정한 바 있다 [97-99]. M. T. Stone et al. [99]는 몬테 카를로 시뮬레이션을 이용해 물 속의 소수성 (hydrophobic) 및 친수성 (hydrophilic) 용질 (solute)의 용매화 (solvation) 특성을 조사했으며, 물 속에 존재하는 공동의 크기는 예상보다 크다는 사실을 밝혔다. 또한 저자들은 수소 결합이 물을 클러스터 (cluster)로 응집시키는 것에 의해 많은 수의 작은 공동보다 상대적으로 큰 적은 수의 공동이 생긴다고 정리했다. 더하여 가열은 기-액 계면을 발달시키는데 에너지를 제공하는 수단이 된다 [100, 101]. 그러므로 가열하는 동안 낮아진 기체 용해도로 인해 용존 기체는 물 밖으로 빠져나와 공동으로 확산되며, 동시에 공급된 열은 기-액 계면을 발달시키는데 사용되어 나노버블이 생성되었다고 정리할 수 있다.

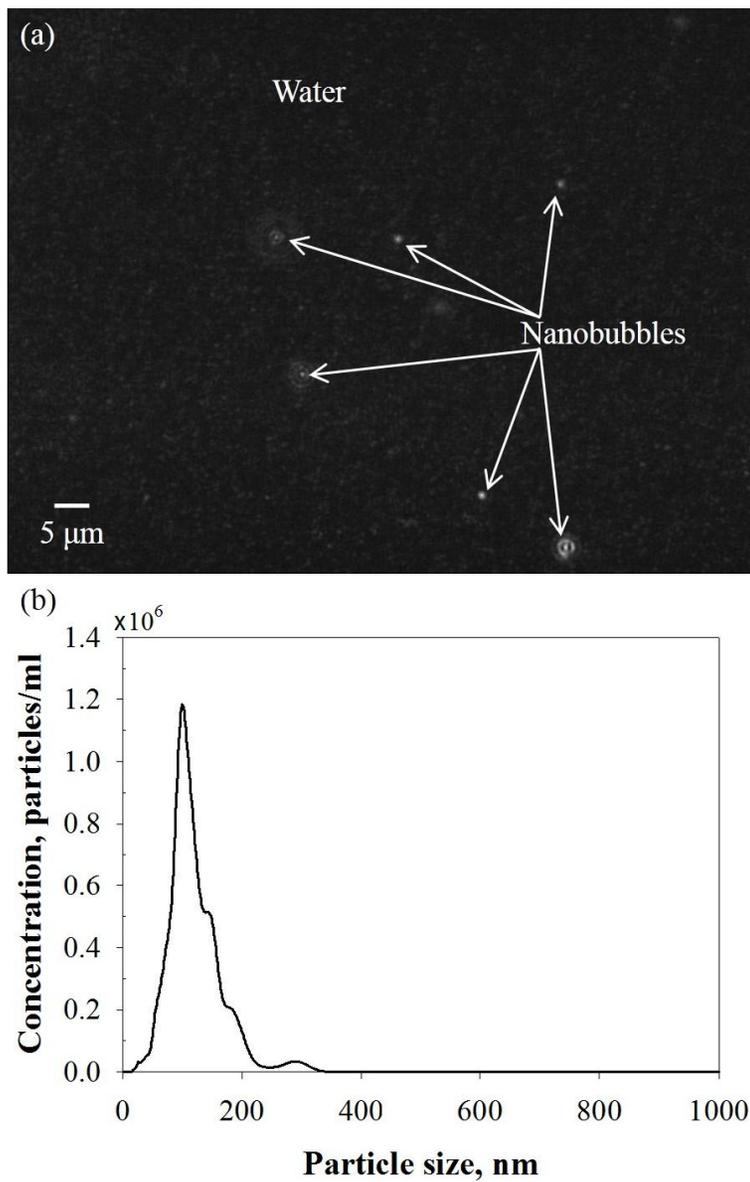


Fig. 4.4 (a) image of nanobubbles (b) size distribution of nanobubbles obtained from heated DI water (80 °C).

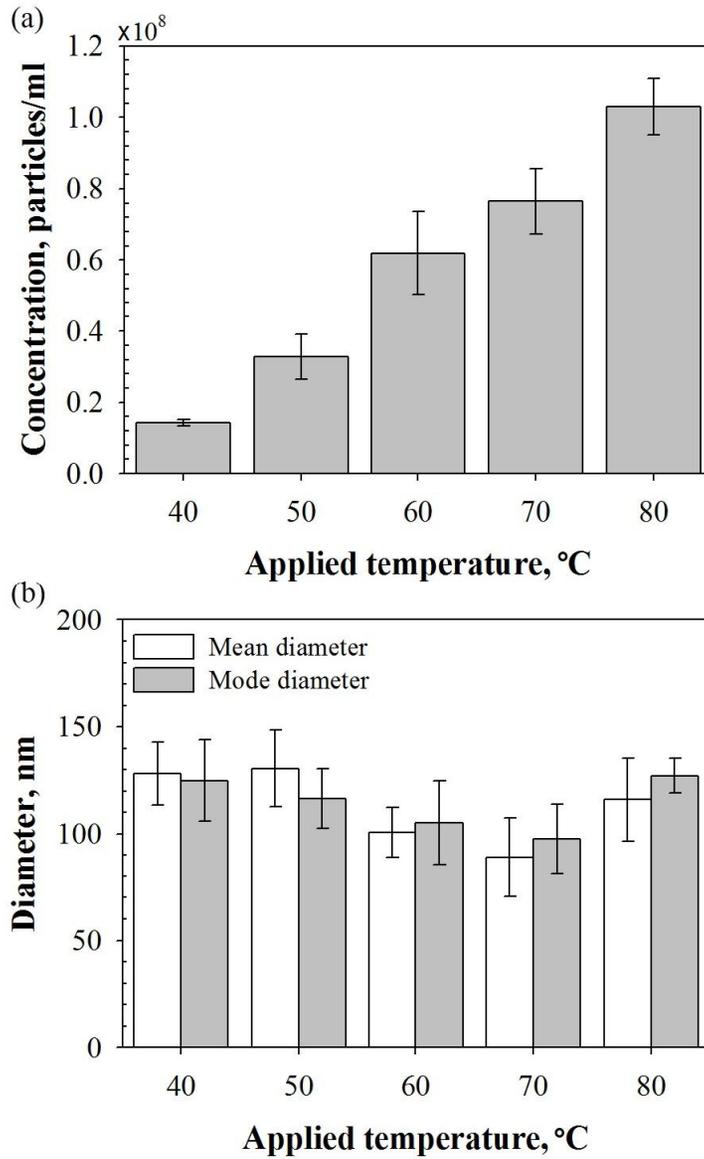


Fig. 4.5 Particle analysis results obtained from heated DI water (a) concentration (b) mean and mode diameter.

Table. 4.2 Particle analysis results obtained from heated DI water.

Item	Concentration,	Mean diameter,	Mode diameter,
Temperature, °C	×10⁸ particles/ml	nm	nm
40	0.14±0.01	128.33±14.74	125.00±19.03
50	0.33±0.06	130.67±17.79	116.50±14.08
60	0.62±0.12	100.75±11.62	105.33±19.50
70	0.77±0.09	89.00±18.68	97.50±16.26
80	1.03±0.08	116.00±19.43	127.25±8.18

또한 50 °C 조건에서 생성된 나노버블 수를 상온 방치하여 냉각시키고, 가열 및 냉각 과정을 2 회 추가하여 반복함으로써 나노버블의 열적 안정성을 조사했다. 총 3 회의 가열 및 냉각 과정을 수행했으며, 나노버블 수의 가열 및 냉각이 종료될 때마다 입도 분석 및 용존 산소 농도 측정을 수행했다. 획득한 결과를 Fig. 4.6 에 나타냈으며, Fig. 4.6 의 하단에 나타낸 H 와 C 는 각각 가열과 냉각 (상온 방치)을 나타낸다.

Fig. 4.6(a)에서 볼 수 있듯이, 50 °C 에 도달한 뒤에 5 분간 유지하는 조건에서 생성된 나노버블의 개체수는 가열 횟수에 큰 영향을 받지 않으며, 가열 순서대로 각각 $0.33 \pm 0.06 \times 10^8$ particles/ml, $0.30 \pm 0.06 \times 10^8$ particles/ml, $0.32 \pm 0.05 \times 10^8$ particles/ml 로 측정되었다. 그러나 가열 이후에 이어지는 냉각에서는 나노버블의 개체수가 감소했으며, 냉각 순서대로 각각 $0.22 \pm 0.01 \times 10^8$ particles/ml, $0.18 \pm 0.06 \times 10^8$ particles/ml, $0.19 \pm 0.03 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났다. 또한 50 °C 에 도달한 뒤에 60 분간 유지하는 조건에서 생성된 나노버블의 개체수에서도 5 분 유지 조건에서와 동일한 경향이 나타났으며, 가열 순서대로 개체수가 각각 $0.38 \pm 0.07 \times 10^8$ particles/ml, $0.44 \pm 0.04 \times 10^8$ particles/ml, $0.39 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 인 나노버블이 생성되었다. 그러나 가열 이후에 이어지는 냉각에서는 나노버블의 개체수가 감소했으며, 냉각 순서대로 각각 $0.31 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml, $0.33 \pm 0.02 \times 10^8$ particles/ml, $0.29 \pm 0.07 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났다. 이를 통해 열처리가 반복되더라도 나노버블의 개체수는 약 $0.2 \sim 0.5 \times 10^8$ particles/ml 로 나타남을 알 수 있다.

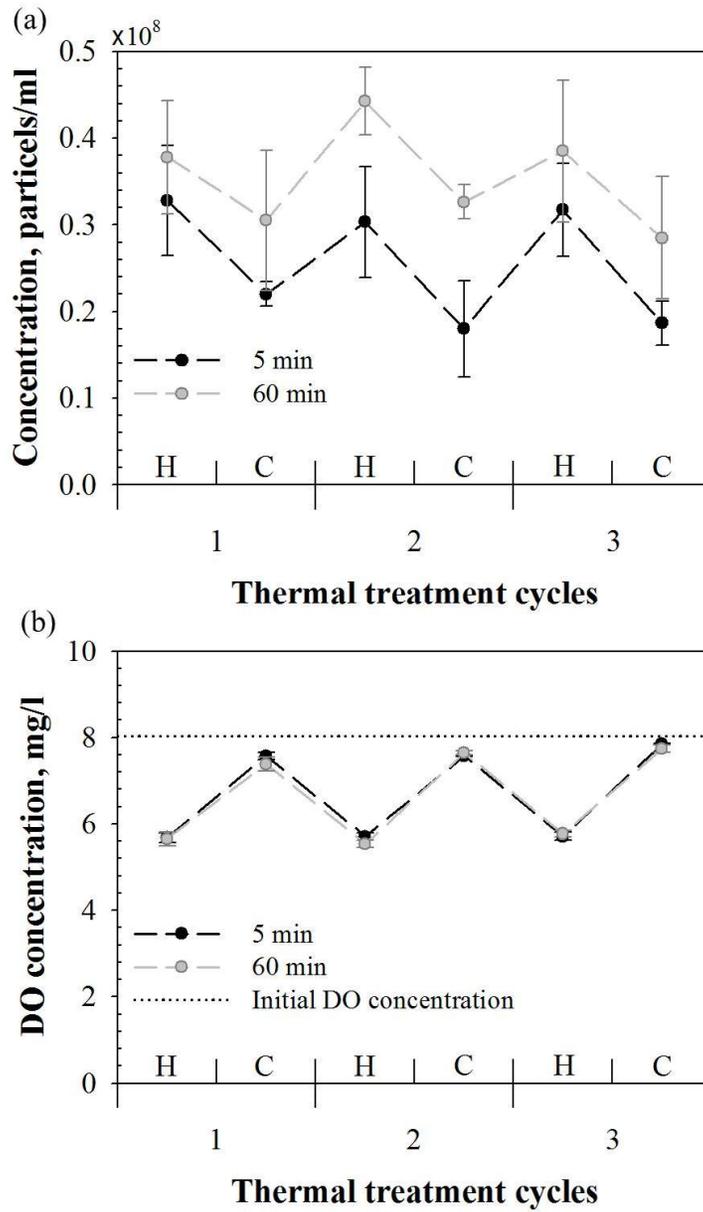


Fig. 4.6 Effect of repeated thermal treatment on (a) concentration of nanobubbles
(b) DO concentration of DI water.

앞서 Fig. 4.6(a)를 통해 살펴본 결과는 열처리가 반복되더라도 한번 생성된 나노버블은 완벽하게 사라지지 않음을 의미한다. 몇몇 학자들에 의해 가혹 조건에서도 나타나는 나노버블의 뛰어난 안정성이 보고된 바 있으며 [1, 14], S. Liu et al. [14]는 나노버블의 개체수가 1.97×10^8 particles/ml 인 나노버블 수를 생성한 뒤에 진공 펌프 (5 L/min, 0.02 MPa)를 이용해 탈기 (degassing)시켰지만 나노버블이 완전히 사라지지 않음을 보인바 있다. 또한 Zimmerman et al. [1]은 일단 생성된 나노버블은 매우 끈질기다고 표현한 사례가 있을 정도로 나노버블은 뛰어난 안정성을 자랑한다.

그러나 나노버블의 개체수는 가열과 냉각에 의존하는 경향을 보이며, 가열에 의해 증가하거나 냉각에 의해 감소한다. 이와 같은 경향은 Fig. 4.6(b)에 나타낸 열처리에 따른 용존 산소 농도의 변화 경향과 완전히 반대된다. 4 장 3 절 3 항에서 언급했듯이, 질소와 산소의 확산 계수가 거의 동일한 사실로부터 용존 산소 농도와 용존 공기 농도를 거의 동일하다고 가정할 수 있다. 따라서 열처리에 따른 개체수 변화 경향은 용존 공기 농도의 변화 경향과 완전히 반대된다고 정리할 수 있다. 바꾸어 말해, 냉각 과정 동안 온도가 낮아지면서 공기 용존도가 증가하므로 버블 내 기체가 버블 주변의 증류수로 확산되기 쉬워진다. 그러므로 나노버블은 냉각 과정 동안 충전 기체를 잃으면서 사라지는 것이다.

한편 가열 및 냉각에 따른 평균 및 모드 직경 변화를 Fig. 4.7 에서 찾아볼 수 있다. Fig. 4.7(a)를 통해 50 °C 까지 가열하고 냉각시킨 증류수에서 측정된 나노버블의 평균 직경을 확인할 수 있으며, 나노버블의 평균 직경은 온도

유지 시간 및 열처리 반복 횟수에 의존하지 않음을 알 수 있다. 또한 모드 직경을 Fig. 4.7(b)에 나타냈으며, 평균 직경에서 확인한 것과 동일한 경향이 나타남을 알 수 있으며, 획득한 평균 및 모드 직경 값은 Table. 4.3 에 정리해 나타냈다.

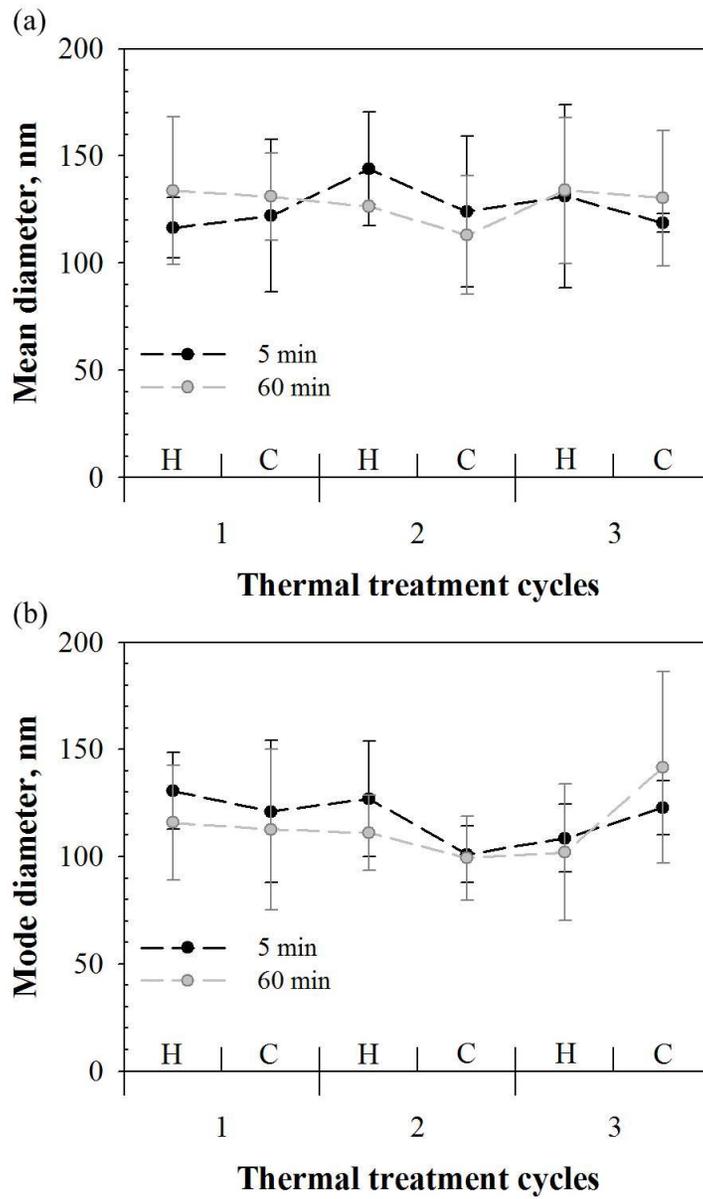


Fig. 4.7 Effect of repeated thermal treatment on (a) mean diameter of nanobubbles (b) mode diameter of nanobubbles.

Table. 4.3 The relationship between heat treatment and nanobubble diameter.

Temperature holding time, min	Thermal treatment cycle	Mean diameter, nm	Mode diameter, nm	
5	1 st	heating	116.50±14.08	130.67±17.79
		cooling	122.00±35.52	121.00±33.12
	2 nd	heating	143.80±26.52	127.00±26.90
		cooling	124.00±35.27	101.00±13.21
	3 rd	heating	131.20±42.78	108.60±15.96
		cooling	118.80±4.27	122.80±12.60
60	1 st	heating	133.80±34.54	115.80±26.72
		cooling	131.00±20.36	112.60±37.33
	2 nd	heating	126.40±0.85	111.15±17.47
		cooling	113.05±27.65	99.35±19.59
	3 rd	heating	134.00±34.04	102.00±31.80
		cooling	130.40±31.60	141.50±44.68

4.4 요약

본 장에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수 내에 나노버블을 생성했으며, 나노버블 수를 가열하고 입도 분석함으로써 나노버블의 열에 대한 안정성을 조사했다. 또한 증류수에 대한 가열 및 가열 후 냉각 실험을 반복하고 입도 분석 및 용존 산소 농도를 측정함으로써 획득한 연구 결과를 고찰했다.

획득한 연구 결과는 다음과 같이 열거해 정리할 수 있다.

- (1) 공정 압력과 시간을 감소시켜 적은 수의 나노버블을 생성할 수 있었으며, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $0.36 \pm 0.07 \times 10^8$ particles/ml, 311.75 ± 106.98 nm, 220.00 ± 186.72 nm 로 측정되었다.
- (2) 나노버블 수를 40 °C, 60 °C, 80 °C 로 가열한 뒤 5 분간 유지했으며, 이후 수행한 입도 분석을 통해 얻은 개체수는 각각 $0.57 \pm 0.03 \times 10^8$ particles/ml, $0.67 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml, $0.83 \pm 0.10 \times 10^8$ particles/ml 로 나타났다. 측정된 개체수는 생성 직후의 개체수보다 크며, 가열 온도에 비례함을 알 수 있다. 그러나 평균 및 모드 직경의 경우, 가열 온도에 의존하지 않음을 확인했다.

(3) 가열에 의한 나노버블 개체수 증가 현상은 증류수에서도 동일하게 나타난다. 40 °C 로 가열한 증류수에서는 $0.14 \pm 0.01 \times 10^8$ particles/ml 의 나노버블이 측정된 것에 반해 80 °C 로 가열한 경우 $1.03 \pm 0.08 \times 10^8$ particles/ml 로 측정되었다. 따라서 생성된 나노버블의 개체수는 가열 온도 (40~80 °C)에 비례함을 알 수 있다. 또한 생성된 나노버블의 평균 및 모드 직경은 200 nm 이하이며, 평균 및 모드 직경에 대한 일원배치 분산분석을 통해 가열 온도 변화는 평균 직경 및 모드 직경에 유의미한 영향을 미치지 못함을 확인했다. 이에 더하여 증류수의 초기 용존 기체 농도 (8.04 ± 0.48 mg/l)를 고려했을 때, 기체로 과포화된 용액은 나노버블 핵생성에 필요한 전제조건이 아님을 알 수 있다.

(4) 반복적인 열처리 (50 °C 가열 → 냉각 (상온 방치) → 50 °C 가열 → ...)를 통해 나노버블의 열적 안정성을 추가 조사했으며, 열처리가 반복되더라도 나노버블의 개체수는 약 $0.2 \sim 0.5 \times 10^8$ particles/ml 로 나타나며 완전히 사라지지 않음을 확인했다. 또한 동일한 열처리 조건에서 측정된 용존 기체 농도는 개체수와 정반대되는 경향을 보였으며, 이와 같은 경향은 온도 유지 시간 (5 분, 60 분)에 관계없이 동일하게 나타났다. 이를 통해 용존 기체 농도가 나노버블의 개체수 변화에 영향을 미칠 수 있는 주요한 인자로 작용하며, 나노버블은 냉각 과정 동안 충전 기체를 잃으면서 사라짐을 알 수 있다. 더하여 나노버블의 평균 및 모드 직경은 열처리에 의존하지 않음을 확인했다.

이와 같은 사실들로부터 나노버블은 대단히 안정하며, 온도에 대한 나노버블의 안정성은 온도에 의한 버블 주변 액체의 용존 기체 농도에 의한 것임을 알 수 있다. 또한 일단 생성된 나노버블은 쉽게 제거할 수 없으며, 기체로 과포화된 용액은 나노버블 생성에 있어 필수적인 조건이 아니라는 결론을 얻을 수 있다.

제 5 장 나노버블 혼합 배양 배지 및 이를 이용한 세포 배양

5.1 서론

최근 들어, 줄기세포 치료제 및 바이오 의약품 시장의 고성장으로 인해 세포 배양 배지의 필요성이 증가하고 있는 추세이다. 세포의 종류에 따라 다양한 혈청이 사용되고 있으나, 일반적으로 임신 중인 소의 혈액으로부터 분리되는 우태 혈청이 가장 널리 사용되고 있다. 따라서 가장 많이 사용되고 있는 우태 혈청 수급의 확대가 요구되고 있다.

그러나 광우병 파동으로 인해 우태 혈청의 공급이 제한되어 그 가격이 폭등한 전례가 있으며, 특히 우리나라의 경우, 국내에서 이루어지는 생산 및 판매가 전무하므로 수입금지 조치가 내려지면 이에 대처할 수 있는 방안이 현재로서는 매우 미흡한 상황이다. 따라서 우태 혈청을 대체할 수 있는 다른 혈청 또는 배양 배지 구성 성분의 개발에 대한 필요성이 크게 대두되고 있다.

따라서 전 세계적으로 많은 연구자들은 우태 혈청을 대체할 수 있는 말 혈청 [28], 염소 혈청 [29, 30], 닭 혈청 [30], 인간 혈청 [31]를 연구하거나 무혈청 또는 무 단백질 배양 배지 개발에 관한 연구 [32]를 수행하고 있다.

Frenke et al. [28]은 우태 혈청과 말 혈청의 섬유아 세포 배양 특성을 비교했으며, 우태 혈청을 사용한 경우, 말 혈청을 사용한 것에 비해 향상된 증식률, 배증 시간이 나타남을 보여주었다. 또한 말 혈청에서는 세포 변성 또는 cell granularity 징후가 나타남을 보고한 바 있다. 한편 Cánovas 와 Bird [31]은 인간 혈청은 내피 세포와 암 세포를 증식시키는 데에 있어 우태 혈청만큼 효과적인 증식 결과를 이끌어낸다고 보고하였다. 그러나 인간 혈청은 우태 혈청에 비해 4~5 배 비싸다는 단점이 있으므로 낮은 농도의 인간 혈청을 사용하기 위한 추가 연구가 필요하다고 결론지었다.

앞서 살펴본 대표적인 연구 사례들로부터 현재까지 우태 혈청의 대체재를 개발하기 위한 연구는 진행 중임을 알 수 있으며, 우태 혈청의 사용량을 줄이면서도 세포 성장을 촉진시킬 수 있는 다른 배지 성분에 관한 연구가 필요함을 알 수 있다.

따라서 본 연구에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 수를 생성하고, 이를 이용해 나노버블 혼합 세포 배양 배지를 제조했다. 또한 제조된 나노버블 혼합 세포 배양 배지를 이용해 섬유아 세포, 조골 세포에 대한 세포 배양 실험을 진행하고 시간 경과에 따른 세포 증식률을 조사함으로써 나노버블 혼합 세포 배양 배지를 개발하기 위한 연구를 수행한다.

5.2 실험 방법

5.2.1 실험 재료

본 연구에서는 나노버블을 생성하기 위해 증류수 (No. 119, HPLC grade, Duksan Pure Chemicals Co., Korea)와 수소 기체 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)를 사용했다. 세포 배양 배지는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)에 10%의 혈청과 1%의 항생제를 혼합해 제조했다. 또한 상기 재료에 대한 추가적인 정화 작업을 수행하지 않고 제조사로부터 받은 그대로 사용했다.

5.2.2 증류수 내 나노버블 생성

감압 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 수를 생성했으며, 생성 기법에 대한 자세한 내용은 2장 3절에 서술되어 있다.

5.2.3 입도 분석

본 연구에서는 정량적인 개체수를 획득할 수 있는 405 nm 레이저가 장착된 나노입자 추적 분석 장치 (NanoSight LM10-HSBFT14, Quantum Design Korea, Korea)를 이용해 나노버블에 대한 입도 분석을 수행했다. 입도 분석을 수행하기 위해 사용한 나노입자 추적 분석 장치 기법 및 장치에 대한 자세한 내용은 2장 2절 2항에서 서술되어 있다.

5.2.4 세포 배양

세포 배양을 수행하기에 앞서 나노버블 수 생성, 나노버블 수 멸균, 준비된 세포 배양 배지에의 혼합을 통해 나노버블 혼합 배양 배지를 제조했다. 나노버블 수 멸균 및 세포 배양 배지에의 혼합 절차는 Table. 5.1 에 정리해 나타냈으며, 최종적으로 5~20 %의 나노버블 수를 세포 배양 배지에 혼합해 나노버블 혼합 배양 배지를 제조했다. 또한 실험 조건에 대한 자세한 사항은 Table. 5.2 에 정리해 나타냈다.

세포 배양 배지 1 ml 당 1 만개의 세포가 들어 있는 상태에서 세포 배양을 시작했으며, 세포가 배양판의 well 바닥에 잘 부착되도록 12 시간 동안 방치했다. 이후, 나노버블 혼합 배양 배지로 교체하고 3 일간 24 시간마다 배양되는 세포의 사진을 촬영했으며, 이를 위해 도립 현미경 (inverted microscope, Nikon Eclipse Ti with 512scEMCCD Camera ($\times 10$)), Nikon Instruments Inc., Japan)을 사용했다. 결과적으로 획득한 사진에서 세포의 수를 세고, 이를 정규화 (normalization) 시켜 나노버블이 세포 배양에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 본 연구에서 사용한 정규화 공식은 식 (5.1)과 같다.

$$\text{Normalized growth rate} = \frac{N_{\text{experimental}}}{N_{\text{control}}} \quad (5.1)$$

여기에서 $N_{\text{experimental}}$ 과 N_{control} 은 각각 실험군과 대조군에서 나타난 세포의 수를 나타낸다.

Table. 5.1 Sterilization of nanobubble water.

i	Autoclave 100 ml bottles at 110 °C for 30 min.
ii	Prepare the 100 ml nanobubble water under the UV-ready laminar hood.
iii	UV radiation for 2 hours.
iv	After above mentioned sterilization, mix the Nanobubble water with certain amount of cell culture medium.

Table. 5.2 Experimental cases.

Cell type	Cell culture medium	
	Base culture medium	Nanobubble water, %
NIH3T3 (Fibroblast)	DMEM + Fetal bovine serum (10 %) + Penicillin streptomycin (1 %)	0
		5
		10
		20
MC3T3 (Osteoblast)	MEM alpha + Fetal bovine serum (10 %) + Penicillin streptomycin (1 %)	0
		5
		10
		20

5.3 결과 및 고찰

본 장에서는 3 장에서 내린 결론으로부터 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 증류수 내에 나노버블을 생성했다. 또한 배양 배지에 나노버블 수를 혼합해 나노버블 혼합 배양 배지를 제조하고, 이를 이용해 세포 배양 실험 (섬유아 세포, 조골 세포)을 진행함으로써 나노버블이 세포 배양에 미치는 영향을 조사했다.

5.3.1 증류수 내 나노버블 생성

감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 수를 생성했으며, 생성 직후, 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 생성된 나노버블의 입도 분석을 수행했다. 획득한 결과를 Fig. 5.1 에 나타냈으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $1.14 \pm 0.11 \times 10^8$ particles/ml, 124.00 ± 26.23 nm, 102.00 ± 39.95 nm 로 측정되었다.

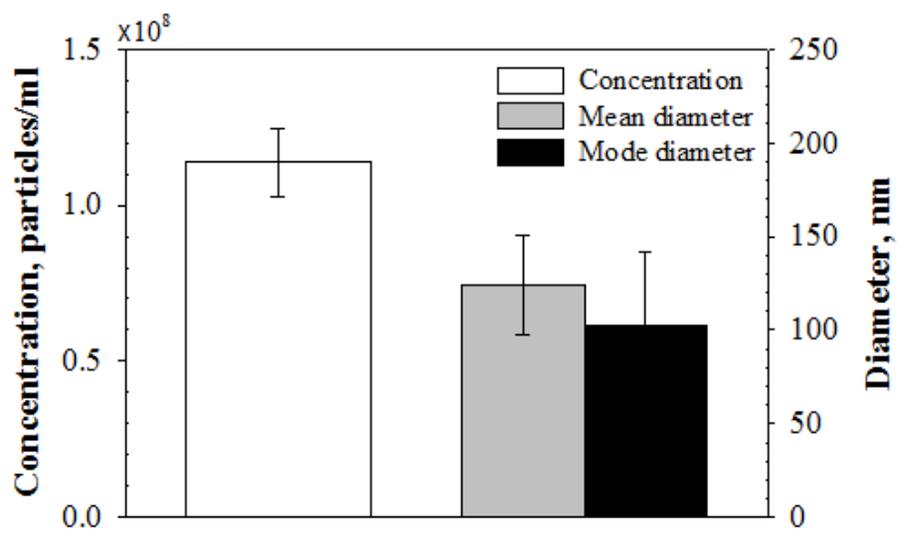


Fig. 5.1 Particle analysis results of nanobubble water, just after fabrication.

5.3.2 세포 배양

나노버블이 세포 증식에 미치는 영향을 조사하기 위해 섬유아 세포에 대한 세포 배양을 진행 (나노버블 수 혼합비: 0 %, 5 %, 10 %, 20 %)했으며, 3 일간 24 시간 간격으로 사진을 촬영했다. 획득한 사진들을 Fig. 5.2 와 5.3 에 나타냈으며, 각각 배지 내 나노버블 수 함유량이 0 % (대조군)와 20 %인 조건에서 나타난 세포 배양 결과를 나타낸다. Fig. 5.2 와 5.3 으로부터 시간 경과에 따라 세포의 수가 증가하는 것을 볼 수 있으며, 대조군의 경우 (Fig. 5.2), 0 일차에 43.87 ± 11.82 개였던 세포가 3 일차 촬영에서는 129.60 ± 48.82 개로 증가했음을 알 수 있다 (43.87 ± 11.82 개 \rightarrow 63.87 ± 13.35 개 \rightarrow 90.00 ± 24.86 개 \rightarrow 129.60 ± 48.82 개). 나노버블 수가 20 % 혼합된 나노버블 혼합 배양 배지의 경우 (Fig. 5.3), 대조군에 비해 더욱 많은 수의 세포가 증식되었으며 0 일차에 32.53 ± 11.70 개였던 세포가 3 일차에는 177.00 ± 37.83 개로 증가했다 (32.53 ± 11.70 개 \rightarrow 90.60 ± 21.33 개 \rightarrow 121.13 ± 31.05 개 \rightarrow 177.00 ± 37.83 개). 이와 같은 경향은 모든 나노버블 수 혼합 조건에서 동일하게 나타났다.

시간 경과에 따른 세포 증식률을 Fig. 5.4 에 나타냈으며, 그림으로부터 세포 증식률은 선형적 성장 (linear growth)을 보임을 알 수 있다. 또한 20 % 조건에서 가장 큰 증식률이 나타났음을 알 수 있으며, 세포 증식률은 1 일차부터 3 일차까지 순서대로 2.80 ± 0.36 , 3.78 ± 0.83 , 5.52 ± 1.20 로 계산되었다. 이는 나노버블 혼합 배양 배지로 교체하기 전의 세포 수에 비해 각각 약 2.80 배, 3.78 배, 5.52 배 증가했음을 의미한다. 또한 획득한 세포 증식률로부터 0 일차와 1 일차 사이에 가장 많은 수의 세포가 늘어나지만 (Table 5.3),

나노버블 수가 혼합된 경우, 세포 증식률은 나노버블 수 혼합 비율 (5~20 %)에 의존하지 않음을 알 수 있다.

본 연구에서는 나노버블 수를 배양 배지에 혼합시킴으로써 나노버블을 첨가했으므로, 나노버블 수 혼합 비율이 증가할수록 배양 배지 내 나노버블의 개체수와 증류수 함유량이 함께 증가한다. 증류수 함유량이 증가할 경우, 세포의 성장 및 분열에 필요한 영양분, pH 등의 배양 환경이 기준치에 비해 낮아지게 될 것임이 분명하며, 이로 인해 세포 증식이 잘 이루어지지 않을 것임을 예상할 수 있다. 그러나 획득한 결과들은 나노버블의 개체수와 세포 증식률 사이에는 정적 상관 관계 (positive correlation)가 존재함을 보여주며, 이는 증류수에 의해 발생할 것으로 예상되는 부정적 효과보다 크게 나타남을 알 수 있다.

그러나 Table. 5.3 의 괄호 안에 표기한 세포 증식률의 증가량으로부터 나노버블은 1 일차를 제외하고, 배증 시간을 줄이는데 기여하지 못함을 알 수 있다. 대조군의 증식률 증가량은 평균적으로 43.3 ± 4.2 %이며, 나노버블 혼합 배양 배지의 증식률 증가량 (1 일차 제외)은 5 %, 10 %, 20 %에서 각각 42.8 ± 6.5 %, 36.8 ± 3.9 %, 40.5 ± 7.8 %로 계산된다. 따라서 둘 사이에는 유의미한 차이가 없음을 알 수 있다.

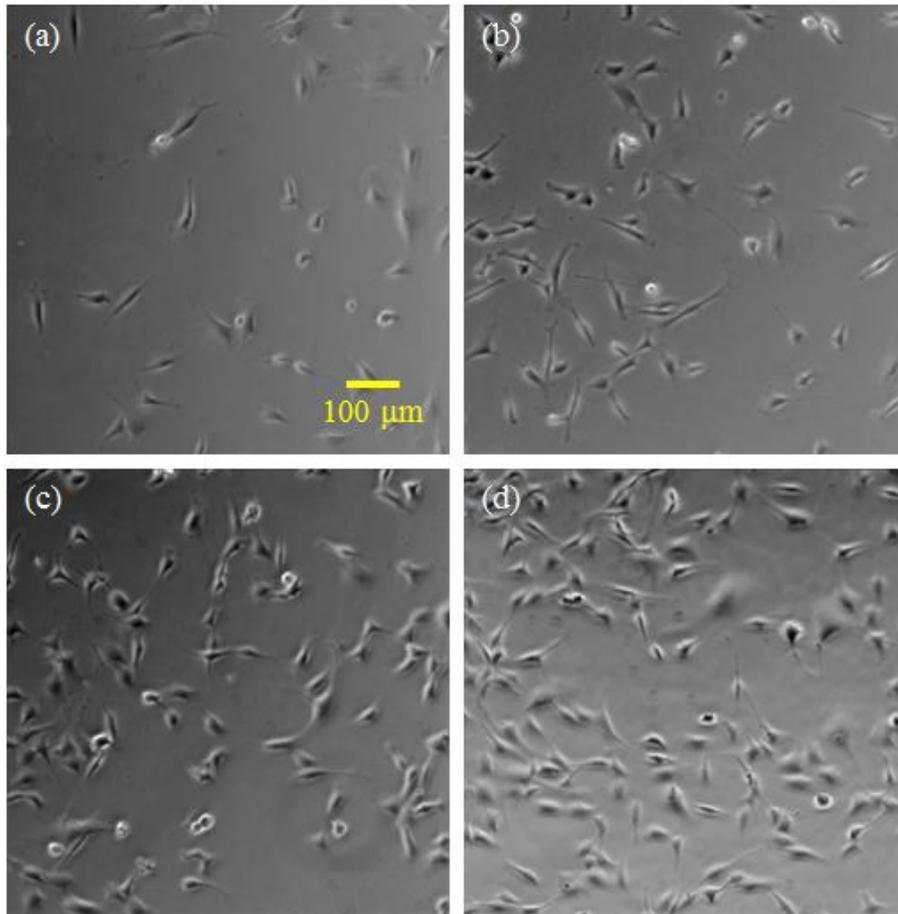


Fig. 5.2 Images of NIH3T3 cells, 0 % of nanobubble water (a) 0 day elapsed (b) 1 day elapsed (c) 2 days elapsed (d) 3 days elapsed.

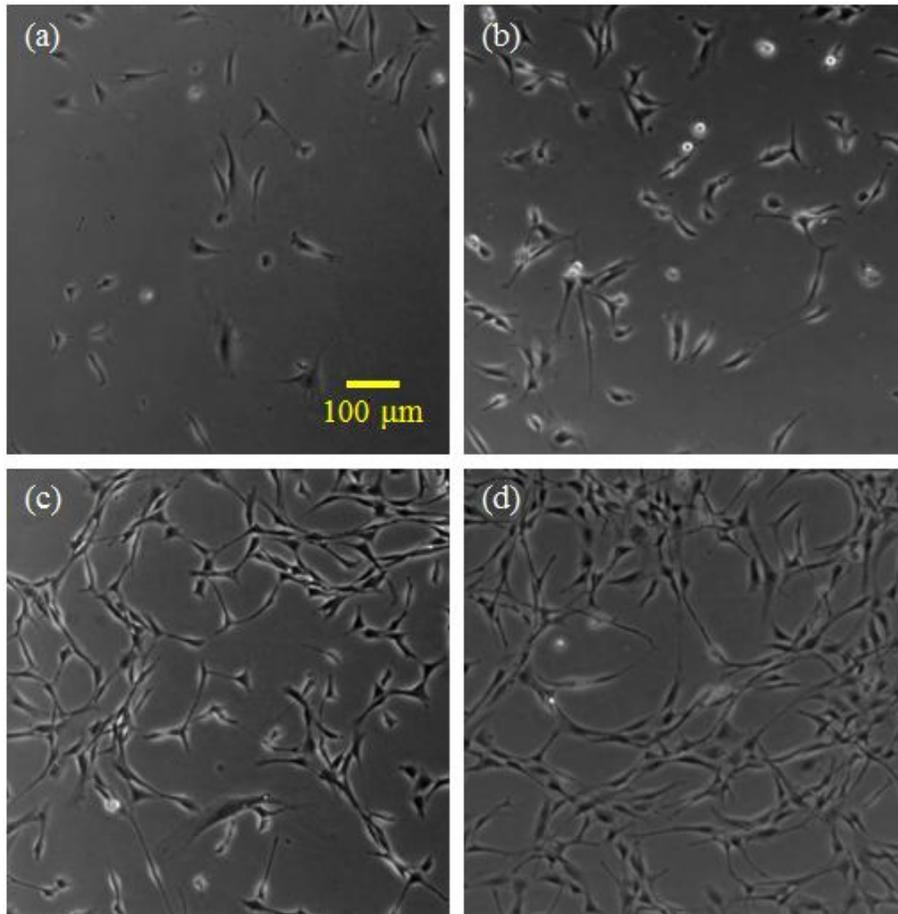


Fig. 5.3 Images of NIH3T3 cells, 20 % of nanobubble water (a) 0 day elapsed (b) 1 day elapsed (c) 2 days elapsed (d) 3 days elapsed.

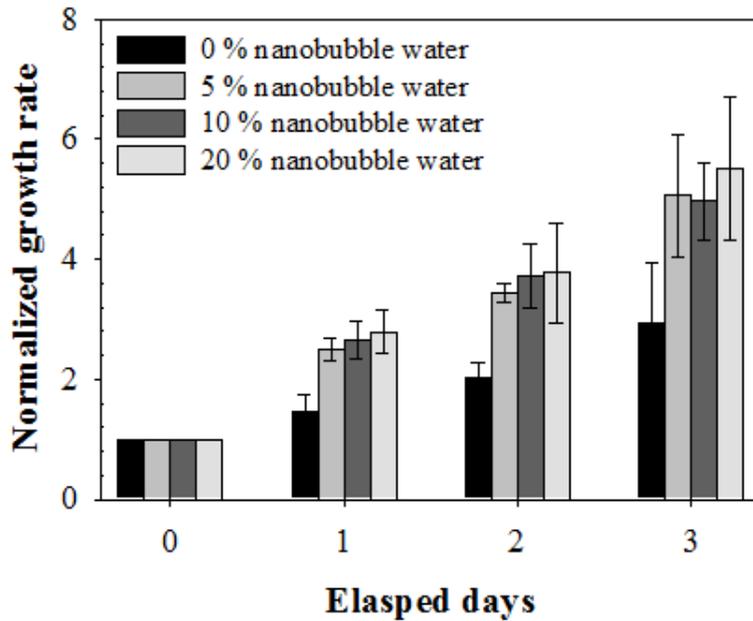


Fig. 5.4 Normalized growth rate of NIH3T3 cell.

Table. 5.3 Normalized growth rate of NIH3T3 cell.

Elapsed days	Normalized growth rate			
	0 %	5 %	10 %	20 %
0	1.00	1.00	1.00	1.00
	(-)	(-)	(-)	(-)
1	1.47	2.49	2.66	2.80
	(47.0 %)	(149.0 %)	(166.0 %)	(180.0 %)
2	2.04	3.44	3.71	3.78
	(38.8 %)	(38.2 %)	(39.5 %)	(35.0 %)
3	2.94	5.07	4.97	5.52
	(44.1 %)	(47.4 %)	(34.0 %)	(46.0 %)

Numbers in bracket means increment of normalized growth rate expressed as a percentage.

섬유아 세포의 배양에서와 마찬가지로 조골 세포에 대한 세포 배양을 진행 (나노버블 수 혼합비: 0 %, 5 %, 10 %, 20 %)했으며, 3 일간 24 시간 간격으로 사진을 촬영하고 세포의 증식을 관찰했다. 이를 통해 시간 경과에 따라 세포의 수가 증가함을 확인했으며, 나노버블 수 혼합비가 0 %인 대조군의 경우, 0 일차에 15.73 ± 6.34 개였던 세포가 3 일차에서는 171.00 ± 75.86 개로 증가했다 (15.73 ± 6.34 개 \rightarrow 38.60 ± 19.48 개 \rightarrow 95.27 ± 46.38 개 \rightarrow 171.00 ± 75.86 개). 또한 나노버블 수가 20 % 혼합된 나노버블 혼합 배양 배지의 경우 (Fig. 5.4), 대조군에 비해 더욱 많은 수의 세포가 증식되었으며 0 일차에 17.07 ± 9.96 개였던 세포가 3 일차에는 251.33 ± 75.25 개로 증가했다 (17.07 ± 9.96 개 \rightarrow 57.33 ± 47.43 개 \rightarrow 106.93 ± 43.12 개 \rightarrow 251.33 ± 75.25 개). 이와 같은 경향은 모든 나노버블 수 혼합 조건에서 동일하게 나타났다.

시간 경과에 따른 세포 증식률을 Fig. 5.5 에 나타냈으며, 그림으로부터 세포 증식률은 지수함수적 성장 (exponential growth)에 가까움을 알 수 있다. 또한 10 % 조건에서 가장 큰 증식률이 나타났음을 알 수 있으며, 세포 증식률은 1 일차부터 3 일차까지 순서대로 4.84 ± 0.03 , 7.90 ± 0.81 , 19.65 ± 2.24 로 계산되었다. 이는 나노버블 혼합 배양 배지로 교체하기 전의 세포 수에 비해 각각 약 4.84 배, 7.90 배, 19.65 배 증가했음을 의미한다. 또한 획득한 세포 증식률로부터 0 일차와 1 일차 사이에 가장 많은 수의 세포가 늘어나지만 (Table 5.4), 나노버블 수가 혼합된 경우, 세포 증식률은 나노버블 수 혼합 비율 (5~20 %)에 의존하지 않음을 알 수 있다.

조골 세포의 배양에서도 섬유아 세포의 배양에서와 동일하게 나노버블 수를 배양 배지에 혼합시킴으로써 나노버블을 첨가했으므로, 세포 배양 배지에 혼합되는 나노버블 수 내 종류수로부터 발생하는 부정적인 영향보다 나노버블이 세포 증식에 미치는 긍정적인 영향이 더 크게 나타난 관계로 세포 증식률이 향상되었음을 알 수 있다.

앞서 나타낸 Fig. 5.2~5.5 와 Table. 5.3~5.4 를 통해, 나노버블 혼합 배양 배지는 배양 세포의 종류에 관계없이 공통적으로 세포 증식률을 증가시킴을 알 수 있다. 이와 같은 나노버블에 의한 세포 증식률 향상은 세포질 유동 향상, 세포 접착 향상, 세포막 기능 변화에 의해 나타날 수 있다 [14, 102-105].

Liu et al. [14]는 보리 씨의 발아 실험을 진행했으며 나노버블에 의해 보리 씨의 발아율이 향상됨을 보여주었다. 저자들은 이와 같은 발아율 향상이 물의 특성에 기인한다고 결론지었으며, 이를 검증하기 위해 핵자기 공명 완화 시간 (nuclear magnetic resonance relaxation time), T_2 를 측정했다. 이를 통해 T_2 값은 나노버블의 개체수와 정적 상관 관계를 가지고 있음을 보여주었으며, 이는 나노버블이 물 분자의 유동성 (mobility)를 향상시킨다는 것을 의미한다. 이와 비슷하게 Ushikubo et al. [102]은 보리 초엽 (barley coleoptile) 세포 내 세포질 유동 (cytoplasmic streaming)을 관찰했으며, 산소 마이크로 및 나노버블에 의해 세포질 유동이 향상됨을 보여주었다.

한편 Matsuno et al. [103]은 scaffold 표면에 나노버블을 흡착시킨 뒤에 섬유아 세포의 배양을 진행했으며, 이를 통해 섬유아 세포의 증식률은 시간이 경과할수록 점점 더 커진다는 사실을 보고했다. 나노버블의 흡착이 세포

배양에 미치는 영향은 불분명하게 나타났지만, 나노버블은 배양 세포가 접착되는 것을 촉진하는 파이브로넥틴 (fibronectin)의 구조적 변성 (structural denaturation)을 일으킴을 보고했다. 또한 저자들은 언급한 변성에 의해 세포 접착이 향상되어, 섬유아 세포의 증식이 향상되었다고 결론지었다.

이 외에도 나노버블은 기체가 막 (membrane) 또는 세포로 전달되기 위한 전달 기작에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다 [104, 105]. 이들의 연구 결과에 따르면 기체의 소수성은 기체가 막에 진입할 수 있는 구동력을 제공하며, 막에 진입한 기체는 막의 곡률을 변화시킨다. 결과적으로 곡률 변화는 세포 기능에 큰 영향을 줄 수 있는 막관통 단백질 (transmembrane protein)의 부분적인 변화 또는 막 구조 전반에 걸친 변화를 일으킨다.

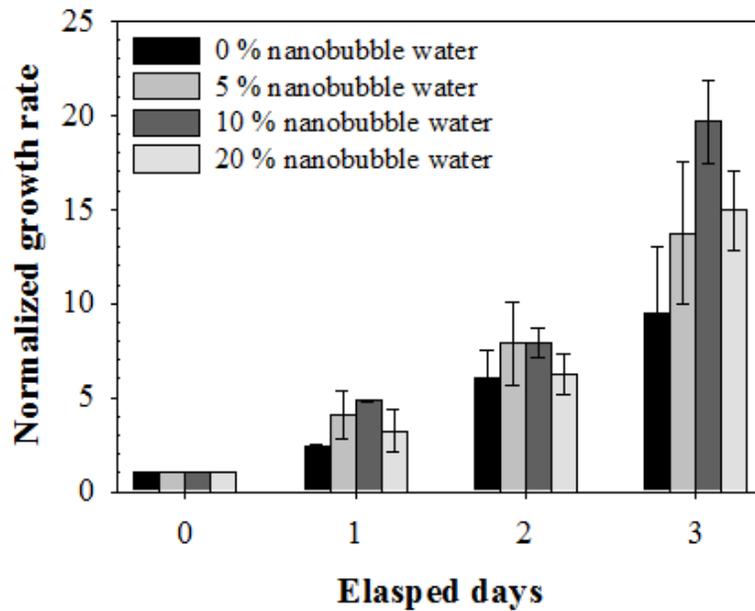


Fig. 5.5 Normalized growth rate of MC3T3 cell.

Table. 5.4 Normalized growth rate of MC3T3 cell.

Elapsed days	Normalized growth rate			
	0 %	5 %	10 %	20 %
0	1.00 (-)	1.00 (-)	1.00 (-)	1.00 (-)
1	2.46 (146.0 %)	4.11 (311.0 %)	4.84 (384.0 %)	3.23 (223.0 %)
2	6.03 (145.1 %)	7.88 (91.7 %)	7.90 (63.2 %)	6.24 (93.2 %)
3	9.52 (57.9 %)	13.73 (74.2 %)	19.65 (148.7 %)	14.95 (139.6 %)

Numbers in bracket means increment of normalized growth rate expressed as a percentage.

5.4 요약

본 장에서는 3 장에서 내린 결론으로부터 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 증류수 내에 나노버블을 생성했으며, 이를 배양 배지에 혼합함으로써 나노버블 혼합 배양 배지 (나노버블 수 혼합비 0~20 %)를 제조했다. 또한 나노버블 혼합 배양 배지를 이용한 세포 배양 실험 (섬유아 세포, 조골 세포)을 진행하고, 배양되는 세포를 24 시간 마다 3 일간 촬영함으로써 배양 배지 내에 분산된 나노버블이 세포 배양에 미치는 영향을 조사했다.

획득한 연구 결과는 다음과 같이 열거해 정리할 수 있다.

- (1) 수소 기체와 증류수를 이용해 감압 기법으로 나노버블을 생성했으며, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $1.14 \pm 0.11 \times 10^8$ particles/ml, 124.00 ± 26.23 nm, 102.00 ± 39.95 nm 로 측정되었다.
- (2) 섬유아 세포는 나노버블 혼합 배양 배지에서 뛰어난 세포 증식률을 보였다. 대표적으로 나노버블 수가 20 % 혼합된 나노버블 혼합 배양 배지의 경우, 0 % 조건에 비해 더욱 많은 수의 세포가 증식되었으며 0 일차에 32.53 ± 11.70 개였던 세포가 3 일차에는 177.00 ± 37.83 개로 증가했다. 또한 섬유아 세포의 세포 증식률은 시간 경과에 따라 선형적으로 증가했다.

(3) 조골 세포는 나노버블 혼합 배양 배지에서 뛰어난 세포 증식률을 나타냈다. 대표적으로 나노버블 수가 20 % 혼합된 나노버블 혼합 배양 배지의 경우, 0 % 조건에 비해 더욱 많은 수의 세포가 증식되었으며 0 일차에 17.07 ± 9.96 개였던 세포가 3 일차에는 251.33 ± 75.25 개로 증가했다. 또한 조골 세포의 세포 증식률은 시간 경과에 따라 지수함수적으로 증가했다.

(4) 나노버블 혼합 배양 배지를 제조하면서 첨가되는 증류수에 의해 세포 성장 및 분열이 악화될 것으로 예측할 수 있다. 그러나 본 연구를 통해 획득한 결과는 나노버블이 세포 증식률에 미치는 긍정적인 효과가 증류수에 의한 부정적인 효과보다 더욱 크다는 사실을 보여준다. 또한 이와 같은 결과는 나노버블에 의한 세포질 유동 향상, 세포 접착 향상, 세포막 기능 변화에 의해 나타날 수 있다

이와 같은 사실들로부터 배양 배지를 구성하는 성분의 농도가 낮아지더라도 나노버블을 첨가함으로써 세포 증식률을 향상시킬 수 있다. 그러므로 나노버블 혼합 배양 배지를 이용함으로써 혈청 사용량을 줄일 수 있을 것이다.

제 6 장 나노버블 혼합 연료 및 이를 이용한 연소 시험

6.1 서론

우리나라는 세계 10 위권의 에너지 다소비 국가이며, 세계 5 위권의 석유 소비국이다. 또한 석유화학공정에 사용하는 에너지는 전체 산업의 25 % 이상으로 친환경 고효율 연료 제조 기술 개발이 에너지 확보 및 활용 측면에서 매우 중요하다. 그러나 국내뿐만이 아니라 전 세계적으로 한정된 화석 연료와 심각해지는 환경 문제에 대응하기 위해, 내연 기관의 연소 및 배기 성능을 향상시키는 것이 중요한 화제가 되고 있다.

수소는 CO_2 , CO , HC 와 같은 유해 물질을 배출하지 않고, 점화에 필요한 에너지가 낮으며 가연성 및 확산 속도가 크기 때문에 [38, 39], 최근 들어, 수소가 내연 기관에 사용되는 화석 연료를 대체할 수 있는 친환경 연료로써 부상하고 있다 [37]. 따라서 수소를 혼합한 디젤, 바이오디젤, 가솔린 및 알코올 연료를 이용한 연소 특성을 향상이 고려되고 있다 [41-44]. 대표적으로 Ji et al. [43]은 수소 주입 시스템을 도입한 수소-가솔린 엔진을 제안하였으며, Zhao et al. [46]은 수소-가솔린 혼합물을 사용한 스파크 점화 엔진을 제안한 바 있다. 이들의 연구 결과에 따르면 수소를 사용할 경우, HC 및 CO 배출과 입자

배출 농도가 90 % 이상 감소된다. 또한 엔진의 열 효율이 향상된다는 결과도 함께 보고되었다.

이와 같은 수소 관련 연구들은 수소를 이용해 가솔린 엔진의 연료 소비율, 열 효율, 유해 물질 배출량이 감소시킬 수 있다는 사실은 대단히 고무적이지만, 수소는 에너지 밀도가 낮고 수소 관련 사회 기반 시설이 미비되어 있으며 내연 기관의 주요 연료로 사용되기에는 비싸다는 문제가 있다.

한편 나노버블은 급격히 액체 표면으로 떠올라 사라지는 일반적인 버블과 액체 내에서 점점 수축하여 사라지는 마이크로버블과는 다르게 쉽게 사라지지 않고 액체 내에서 오랫동안 유지되는 특징이 있으며, 농·축산업 분야 [3, 14], 수처리 분야 [4, 17], 바이오·의학 분야 [5, 86-89] 등과 같은 여러 분야에 응용될 수 있는 잠재력이 있어 나노버블의 생성 및 안정성과 응용 분야에 관해 전 세계적으로 활발한 연구를 진행되고 있다. 또한 본 연구에서 제안하는 나노버블 혼합 연료에서는 나노버블에 충전된 수소 기체의 특성이 연료의 연소 특성을 향상시킬 것으로 기대되며, 동시에 나노버블의 작은 부피와 넓은 표면적은 수소 혼합 연료 및 수소 주입 연소가 갖는 고비용 문제를 해결할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 가솔린 내에 나노버블을 생성하고, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 연소 시험, 물성 평가, 성분 분석을 수행함으로써 나노버블 혼합 연료를 개발하기 위한 연구를 수행한다.

6.2 실험 방법

6.2.1 실험 재료

본 연구에서는 나노버블 혼합 연료를 생성하기 위해 가솔린 (Octane rating: 91–94, Hyundai Oilbank Co. Ltd., Korea)과 수소 기체 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)를 사용했다. 또한 상기 재료에 대한 추가적인 정화 작업을 수행하지 않고 제조사로부터 받은 그대로 사용했다.

6.2.2 가솔린 내 나노버블 생성

감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 혼합 연료를 생성했으며, 나노버블 생성 기법에 대한 자세한 내용은 2 장 3 절에 서술되어 있다.

6.2.3 입도 분석

본 연구에서는 정량적인 개체수를 획득할 수 있는 638 nm 레이저가 장착된 나노입자 추적 분석 장치 (NanoSight LM10-HSBFT14, Quantum Design Korea, Korea)를 이용해 나노버블에 대한 입도 분석을 수행했다. 입도 분석을 수행하기 위해 사용한 나노입자 추적 분석 기법 및 장치에 대한 자세한 내용은 2 장 2 절 2 항에서 서술되어 있다.

6.2.4 엔진 시험

본 연구에서 사용된 엔진은 포트 분사 방식 (port fuel injection)의 4 실린더 가솔린 엔진이며, 스파크 점화 방식이 채용되어 있다 (Sirius G4CP, Hyundai Motors, Korea). 엔진의 배기량은 1997 cm^3 이며, 자연 흡기형 (natural aspiration type)이다. 또한 엔진 피스톤의 지름 (bore) 및 행정 거리 (stroke)는 각각 85.0 mm, 88.0 mm 이며, 압축비 (compression ratio)는 10:1 이다. 엔진 시험에 사용된 엔진의 자세한 사양은 Table. 6.1 에 나타냈다. 또한 연료 계통 장치 (fuel system)는 예혼합 연료 인젝터 (premixed fuel injector), 인젝터 조절기 (injector controller), 연료 공급 및 저장 장치, 연료 유량계 (GFM 57, Aalborg Instrument & Controls, Inc., USA)와 연료 온도 조절 장치로 구성되며, 엔진 시험 장치 구성의 모식도를 Fig. 6.1 에 나타냈다.

엔진 시험은 엔진 회전 속도 (engine speed)가 2000 rpm 으로 일정하게 유지된 상태에서 40~80 %의 엔진 부하 (engine load) 조건으로 수행되었다. 각각의 부하 조건에서 나타나는 출력과 제동 토크 (brake torque)는 와전류 동력계 (eddy current dynamometer)를 통해 측정되었으며, 연료 소비율을 측정하기 위해 연료 소비율 측정 장치 (FG100, Froude, UK)를 사용했다. 흡기, 배기, 냉각수의 압력 및 온도와 흡기 유량은 최대 표본 추출 비율 (sampling rate)이 1 mega samples/s 인 자료 획득 장치 (data acquisition system, PCI-MIO-16E-1, National Instrument, Korea)을 통해 살펴보았다. 마지막으로 냉각수와 윤활유 (lubricant oil)는 연소 시험 중에 지속적으로 유지·보충하며, $75.0 \pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C}$ 로 유지시켰다.

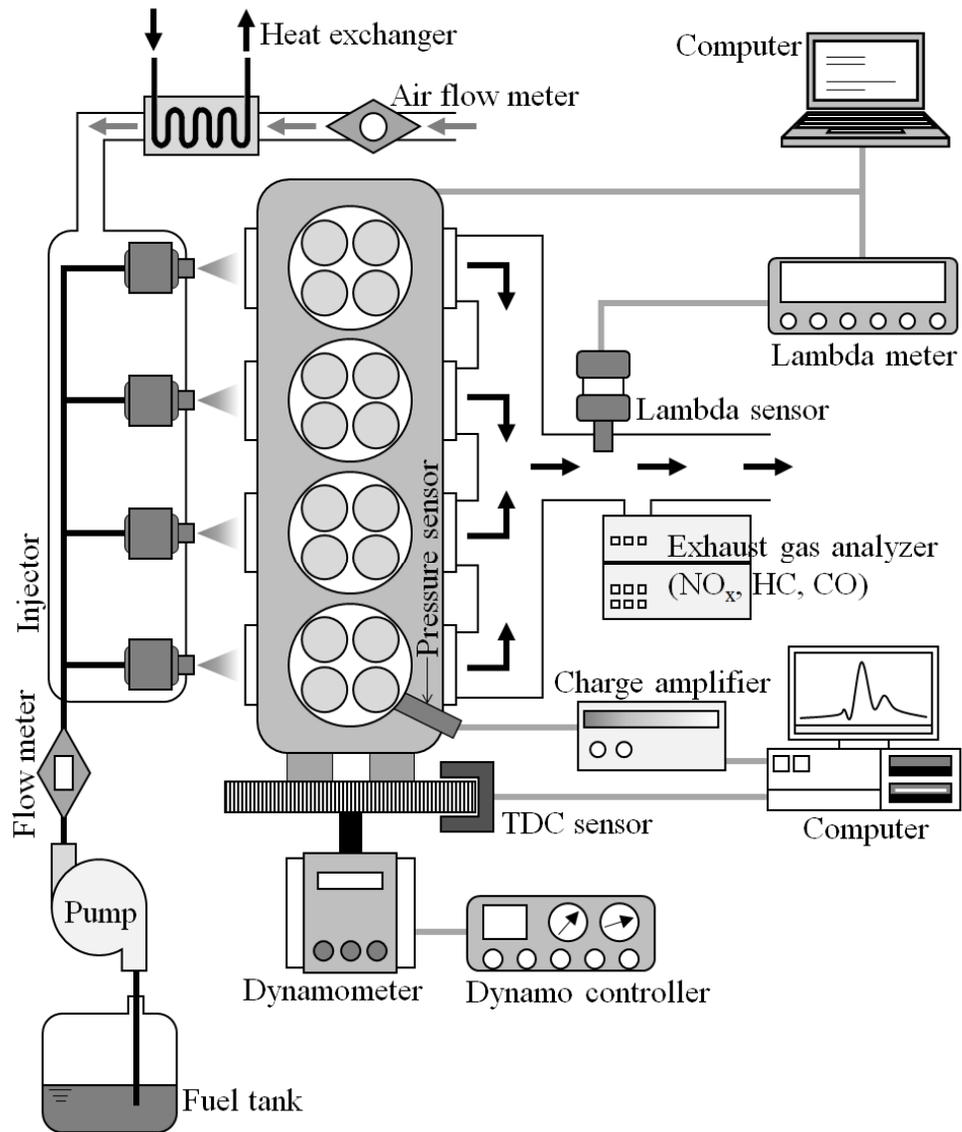


Fig. 6.1 A schematic diagram of experimental apparatus.

Table. 6.1 Specifications of the test engine.

Engine type	Four cylinder spark ignition engine	
Bore	85.0 mm	
Stroke	88.0 mm	
Displacement volume	1997.0 cm ³	
Compression ratio	10.0	
Ignition system	Distributor less ignition	
Maximum power	98.57 kW @ 6000 rpm	
Maximum torque	180.44 N·m @ 4500 rpm	
Vavle timing	IVO	15° BTDC
	IVC	53° ABDC
	EVO	51° BBDC
	EVC	17° ATDC

6.2.5 점도 및 표면 장력 측정

나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 동점성을 점도계 (LVT, Brookfield Engineering Laboratories, USA) 를 이용해 측정했다. 본 연구에서 사용된 점도계는 지시침 (indicator needle)을 포함한 본체, 회전심봉 (spindle), 받침대 및 원형 수평계로 구성되어 있으며, 0.3~60.0 rpm 으로 회전하는 회전심봉을 이용해 $1.0\sim 2.0 \times 10^6$ mPa·s 의 점도를 측정할 수 있다. 본 연구에서는 지시침의 움직임이 안정화된 이후에 바늘이 가리키는 값을 읽었으며, 이를 환산 계수 (conversion factor)에 곱해 동점성을 측정했다. 환산 계수는 사용한 회전심봉과 회전심봉의 회전 속도에 의해 결정된다.

또한 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 표면 장력을 Du Noüy 표면 장력계 (Du Noüy tensiometer, 514-B2, ITOH Seisakusho Ltd., Japan)를 사용해 측정했다. Du Noüy 표면 장력계는 Du Noüy 고리 (ring), 시료 받침대 및 측정된 표면 장력을 나타내는 계기판으로 구성된다. 액체 내에 침지된 Du Noüy 고리는 천천히 들어 올려지며, 고리를 들어 올리기 위해 필요한 힘, F 과 표면 장력, σ 은 식 (6.1)과 같은 관계를 갖는다.

$$F = 4\pi r_{ring} \sigma \quad (6.1)$$

여기에서 r_{ring} 는 Du Noüy 고리의 반지름을 나타낸다.

6.2.6 기체 크로마토그래피/질량 분석

나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 조성을 조사하고, 둘 사이의 차이를 알아보기 위해 비극성 low-bleed 컬럼 (column, DB-5 ms, Agilent Technologies Korea Ltd., Korea)을 이용한 기체 크로마토그래피/질량 분석 (gas chromatography/mass spectrometer)을 수행했다. 본 연구에서 사용한 기기 (HP6890/Micromass Autospec, Micromass Ltd., UK)는 질량 분석기와 기체 크로마토그래피로 구성된다. 또한 질량 분석기는 진공 시스템, 냉각 시스템, 기체 크로마토그래피 오븐과 질량 분석기를 연결하는 열전달 통로 (transfer line)인 interface 부, 이온을 질량수에 따라 분리하는 분석기 (analyzer), 질량에 따라 분리된 이온 빔 (beam)을 검출하는 검출기 (detector)로 구성되며, 기체 크로마토그래피는 시료 주입 장치, 물질 분리 컬럼, 검출기로 구성된다.

질량 분석법은 분석 대상물을 이온화시키고 각각의 이온이 갖는 질량에 따라 분리시킨 뒤, 이온들의 질량 대 전하비에 따라 분석하는 방법이다. 본 연구에서는 분석 대상물을 이온화시키기 위해 가장 자주 이용되는 이온화 기법인 전자 이온화 기법을 사용했다. 때문에 분석 대상물과 분해된 분석 대상물로부터 생성된 이온이 모두 질량 스펙트럼 (mass spectrum)에 나타나게 된다. 또한 전자 이온화 기법은 분석 종료 후 시료를 회수하지 못한다는 단점이 있으나 다른 분석 기법에 비해 매우 뛰어난 감도를 가지고 있어 초미량의 시료만으로도 분석이 가능하다는 장점이 있다.

따라서 나노버블 혼합 가솔린 및 일반 가솔린의 성분 분석을 위해 이들을 다이클로로메탄 (dichloromethane)에 1:1000 의 비율로 희석시켰다. 또한 초기

온도가 23 °C 인 컬럼을 45 °C 로 가열하고 1 분간 유지했으며, 이후 210 °C 까지 15 °C/min 의 승온 속도 (ramping rate)로 가열시켰다. 가열된 온도에서 10 분간 유지했으며, 용매 지연 시간 (solvent delay time)은 3 분으로 설정했다.

6.3 결과 및 고찰

본 장에서는 3 장에서 내린 결론으로부터 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 가솔린 내에 나노버블을 생성했으며, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 점도, 표면 장력, 밀도 등과 같은 물성을 측정하고 비교했다. 또한 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린에 대한 엔진 시험을 진행하고, 기체 크로마토그래피/질량 분석법을 이용한 성분 분석을 수행함으로써 나노버블 혼합 가솔린의 연소 특성을 조사했다.

6.3.1 가솔린 내 나노버블 생성

감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 나노버블 혼합 가솔린을 생성했으며, 생성 직후, 나노입자 추적 분석 기법을 이용해 생성된 나노버블에 대한 입도 분석을 수행했다.

획득한 입도 분석 결과를 Fig. 6.2 에 나타냈으며, 그림에서 볼 수 있듯이, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $11.35 \pm 3.89 \times 10^8$ particles/ml, 149.00 ± 7.81 nm, 149.67 ± 12.01 nm 로 측정되었다. 평균 직경과 개체수가 거의 동일한 사실로부터 단분산계인 나노버블 혼합 가솔린이 생성되었음을 알 수 있다.

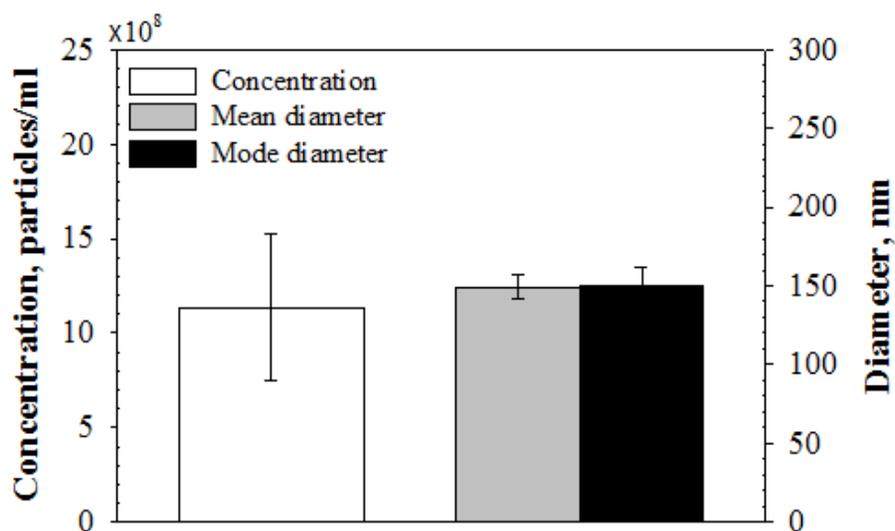


Fig. 6.2 Particle analysis result of nanobubble gasoline blend, just after fabrication.

Table. 6.2 Properties of nanobubble gasoline blend and conventional gasoline.

Properties	Nanobubble gasoline blend	Conventional gasoline	Method
Viscosity, mPa·s	0.55	0.58	
Surface tension, mN/m	13.93	13.54	
Density at 15 °C, kg/m ³	772.0	738.2	KS M ISO 12185:2003
Hydrogen, wt%	13.23	14.16	JIS K 2536-2:2003
H ₂ O, mg/kg	81	73	KS M ISO 12937:2003
Low heating value, MJ/kg	43.31	43.23	KS M 2057:2006

6.3.2 나노버블 혼합 가솔린의 물성

나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 점도, 표면 장력, 밀도 등과 같은 물성을 측정하고 비교함으로써 가솔린 내 나노버블 생성 공정이 가솔린의 물성에 미치는 영향을 살펴보았다. 점도계와 Du Noüy 표면 장력계를 통해 점도 및 표면 장력을 측정했으며, 나노버블 혼합 가솔린의 점도 및 표면 장력은 각각 0.55 mPa·s와 13.93 mN으로 나타났다. 일반 가솔린의 경우, 점도 및 표면 장력이 각각 0.58 mPa·s와 13.54 mN으로 측정되었으며, 이로부터 나노버블 혼합 가솔린의 점도 및 표면 장력은 거의 동일함을 알 수 있다. 또한 KS 및 JIS 규격에 제시되어 있는 기법을 이용해 서로 다른 두 가솔린의 밀도, 수소 함량, 수분 함량, 저위 발열량 (low heating value)을 측정했으며, 획득한 결과를 Table. 6.2에 정리해 나타냈다. 이러한 물성 측정 결과들로부터 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린 사이에는 물성의 차이가 거의 나타나지 않으며, 나노버블 혼합 가솔린 생성 공정이 가솔린의 물성을 크게 변화시키지 않는다는 사실을 알 수 있다.

6.3.3 엔진 시험

엔진 부하를 변경 (40 → 80 %)하며 수행한 엔진 시험을 통해 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 제동 출력을 조사했다. 엔진 회전 속도와 점화 시기가 각각 2000 rpm 과 11° BTDC 로 고정되었으며, 과잉 공기비가 1 인 조건 ($\lambda=1$)에서 획득한 제동 출력 (엔진 부하: 40 %, 60 %, 80 %)을 Fig. 6.6 에 나타냈다.

Fig. 6.3 으로부터 나노버블 혼합 가솔린과 가솔린의 제동 출력이 엔진 부하에 비례하게 나타남을 알 수 있으며, 이는 엔진 부하가 증가할수록 공기-연료 혼합물의 주입량이 증가하는 것에 기인한다. 그러나 나노버블 혼합 가솔린은 모든 엔진 부하 조건에서 일반 가솔린에 비해 꽤 향상된 제동 출력을 나타냈음을 알 수 있다. 엔진 부하가 40 %일 때, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 제동 출력은 각각 26.98 ± 0.15 kW 와 25.95 ± 0.04 kW 로 측정되었으며, 나노버블 혼합 가솔린에서 약 4.0 % 향상되었음을 알 수 있다. 그러나 엔진 부하가 증가할수록 서로 다른 두 가솔린 사이에서 나타나는 제동 출력의 차이가 감소했으며, 엔진 부하가 60 %, 80 %일 때, 나노버블 혼합 가솔린은 일반 가솔린에 비해 각각 3.1 %, 0.7 % 향상된 제동 출력을 보여주었다 (Table. 6.3). 따라서 최대 향상률은 2000 rpm, 40 %에서 나타남을 알 수 있다. 이와 비슷하게, Karagöz et al. [106]은 스파크 점화 엔진에서 수소를 추가 연료로 사용할 경우, 연소를 향상시키고 유해한 배출물은 감소시킬 수 있다고 보고한 바 있다. 저자들은 수소 기체의 저장 문제를 해결할 수 있는 방안으로써 물의 전기 분해를 이용해 수소-산소 기체 혼합물을 공급했으며, 이를 통해 3500 rpm 조건에서 제동 출력이 1.0 % 향상되었음을 보여주었다.

이와 같은 제동 출력 향상은 수소의 특성을 통해 설명될 수 있다. 수소의 가연 범위 (flammable range)가 가솔린에 비해 넓은 관계로 수소-가솔린 혼합물이 일반 가솔린에 비해 짧은 연소 기간과 넓은 가연 범위를 갖게 되며, 결과적으로 연소 효율이 높아져 출력이 향상되는 것이다 [45, 107]. 이러한 이유에서 높은 등용도 (degree of constant volume)를 갖는 연소가 일어날 수

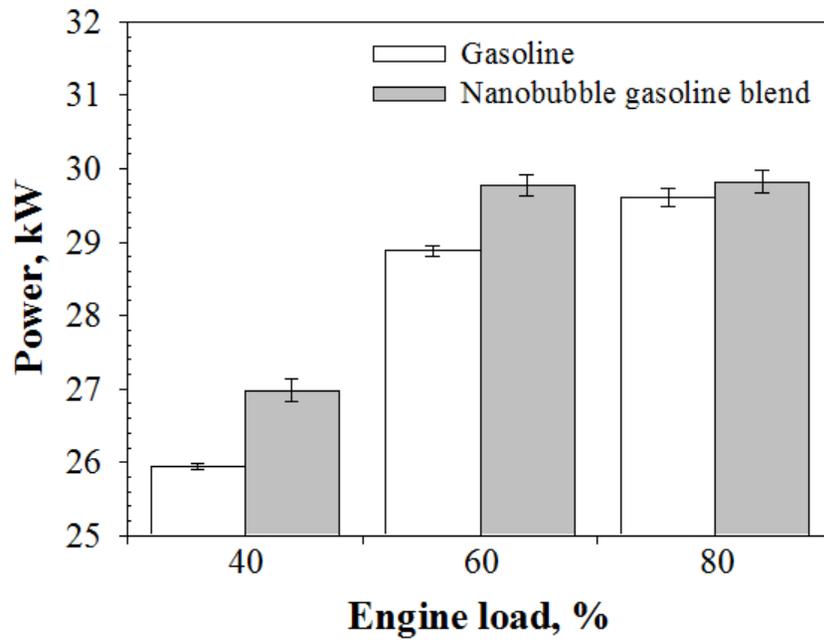


Fig. 6.3 Engine brake power, with variation of engine loads.

Table. 6.3 Engine brake power.

Engine load, %	Engine brake power	
	Nanobubble gasoline blend	Conventional gasoline
40	26.98±0.15	25.95±0.04
60	29.78±0.14	28.88±0.07
80	29.82±0.16	29.60±0.12

있으며, 이는 스파크 점화 엔진이 이론적 행정 (cycle)에 매우 가깝게 운전된다는 것을 의미한다 [108]. 또한 Varde [109]는 단기통 스파크 점화 엔진과 수소-가솔린 혼합물을 이용해 연소 특성을 조사했으며, 가솔린에 혼합되는 적은 양의 수소로 인해 화염 속도가 증가한다고 보고한 바 있다. 따라서 나노버블 혼합 가솔린에 포함된 수소로 인해 높은 화염 속도가 나타나고 연료 효율과 배기배출물의 관점에서 엔진의 안정적인 운전을 제한하는 요인인 사이클 변동 (cycle to cycle variation)이 감소된다 [110].

더하여 앞서 언급한 제동 출력의 경우에서와 동일하게 엔진 부하를 변경하며 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 연료 소비율을 조사했다. 엔진 회전 속도와 점화 시기가 각각 2000 rpm 과 11° BTDC 로 고정되었으며, 과잉 공기비가 1 인 조건 ($\lambda=1$)에서 획득한 연료 소비율 (엔진 부하: 40 %, 60 %, 80 %)을 Fig. 6.4 에 나타냈다.

Fig. 6.4 는 엔진 부하와 연료 소비율의 관계를 보여주며, 연료 소비율은 대체적으로 엔진 부하에 비례함을 알 수 있다. 또한 나노버블 혼합 가솔린의 경우, 모든 엔진 부하 조건에서 일반 가솔린에 비해 낮은 연료소비율을 나타낸다. 엔진 부하가 40 %일 때, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 연료 소비율은 각각 269.35 ± 1.72 g/kWh 와 290.95 ± 0.15 g/kWh 로 측정되었으며, 나노버블 혼합 가솔린에서 약 7.4 % 향상되었음을 알 수 있다. 또한 엔진 부하가 60 %, 80 %일 때, 나노버블 혼합 가솔린은 일반 가솔린에 비해 각각 2.5 %, 6.4 % 향상된 연료 소비율을 보여주었다 (Table. 6.4). 이로부터 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 연료 소비율 차이는 엔진 부하가 40 %일 때

가장 크게 나타났음을 알 수 있다. 또한 엔진에 큰 열 부하가 부과되는 고부하 영역 (80 %)에서는, 수소가 함유된 나노버블 혼합 연료의 수소가 연소되면서 연료가 일로 전환되는 양이 증가해 연료 소비율과 열 효율이 증가되었음을 알 수 있다. 이는 수소의 빠른 화염 속도와 넓은 가연 범위가 엔진 내에서 일어나는 수소 혼합 연료의 연소를 이상적인 정적 연소 (constant volume combustion)에 가깝게 만들어주며, 이로 인해 엔진의 열 및 연료 효율이 향상되는 것에 기인한다 [111].

또한 본 연구에서는 점화 시기 (ignition timing)과 연료 분사 시기 (fuel injection timing)이 일반 가솔린의 최적 연소를 이끌어낼 수 있는 조건에 맞추어 고정되어 있었다. 그러나 나노버블 혼합 가솔린을 제조하는데 사용한 수소는 연소 기간 (combustion period)를 줄이고 연료 변질 (fuel decomposition) 및 수산화기 (hydroxyl radical) 생성을 억제하므로, 수소 첨가를 통해 노킹 (knocking) 현상을 피할 수 있다는 사실 [46, 112]과 나노버블 혼합 가솔린에서 뛰어난 연소 성능이 나타난 것을 고려해 점화 시기와 연료 분사 시기를 높은 옥탄가 (octane number)를 갖는 연료 연소 조건에 맞추어 진각시킨다면 더욱 향상된 연소 성능이 나타날 것으로 예측된다.

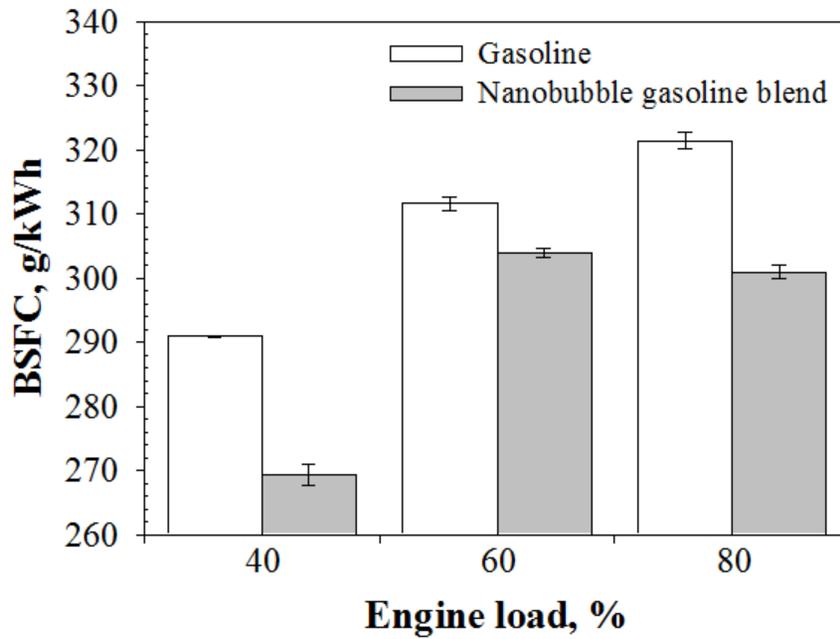


Fig. 6.4 Brake specific fuel consumption, with variation of engine loads.

Table. 6.4 Brake specific fuel consumption.

Engine load, %	Brake specific fuel consumption	
	Nanobubble gasoline blend	Conventional gasoline
40	269.35±1.72	290.95±0.15
60	303.89±0.74	311.63±1.11
80	300.95±1.12	321.44±1.33

6.3.4 기체 크로마토그래피/질량 분석

가솔린 내에 생성된 나노버블의 개체수는 $11.35 \pm 3.89 \times 10^8$ particles/ml 로 대단히 많은 나노버블들이 분산되어 있음에는 분명하나, 나노버블의 작은 직경을 고려했을 때, 나노버블에 충전된 수소 기체의 부피비는 매우 작을 것임을 예측할 수 있다. 또한 나노버블의 평균 직경 (149.00 ± 7.81 nm)을 이용해 계산된 부피비는 1.57×10^{-3} vol%로 나타난다. 그러므로 나노버블 혼합 가솔린에서 나타난 연소 특성 향상은 수소 기체에 의한 효과만이 아닐 것임을 알 수 있다.

이를 확인하기 위해 기체 크로마토그래피/질량 분석법을 이용한 나노버블 혼합 가솔린 및 일반 가솔린의 성분 분석을 수행했으며, 획득한 결과를 Fig. 6.5 에 나타냈다. 그래프의 위쪽에 나타낸 실선은 일반 가솔린의 성분 분석 결과이며, 아래쪽에 나타낸 점선은 나노버블 혼합 가솔린의 성분 분석 결과를 나타낸다. 또한 그래프의 x 축과 y 축은 각각 특정 성분의 피크가 검출된 시간과 성분의 상대적인 크기를 나타낸다.

Fig. 6.5 에서 볼 수 있듯이 그래프에는 많은 피크들이 존재하며, 각각의 피크는 서로 다른 탄소 원자수와 포화 및 불포화 결합을 갖는 물질들을 나타낸다. 또한 나노버블 혼합 가솔린에서 측정된 어떤 피크들은 동일한 위치에서 나타나는 일반 가솔린의 피크보다 크거나 작음을 알 수 있다. 예를 들어, 나노버블 혼합 가솔린에서 옥탄을 나타내는 피크는 일반 가솔린의 옥탄 피크보다 약간 크다. 또한 나노버블 혼합 가솔린에서 나타나는 톨루엔과 에틸벤젠 (ethylbenzene)의 피크들도 일반 가솔린의 피크에 비해 크게

나타났음을 알 수 있다. 이와 같은 결과들로부터, 수소 기체를 이용해 가솔린 내에 나노버블을 생성하는 과정에서 작용기 (functional group)들의 치환 반응 (replacement reaction)이 일어나고 가솔린의 화학적 구성이 변화했음을 예측할 수 있다. 비슷하게, Nakatake et al. [15]는 디젤 (diesel)내에 나노버블을 생성하는 동안 불포화 탄화수소 (unsaturated hydrocarbon), 황, 질소 및 기타 분자들과 같은 부수적인 디젤의 구성 성분들의 함유량을 감소시키는 치환 반응이 작용기의 감소를 일으킬 수 있다고 보고한 바 있다. 따라서 나노버블 혼합 연료의 연소 반응 향상은 수소 및 산소 원자의 첨가에 의한 연료의 화학적 구성 요소 변화에도 일부 의존하는 것으로 기대할 수 있다.

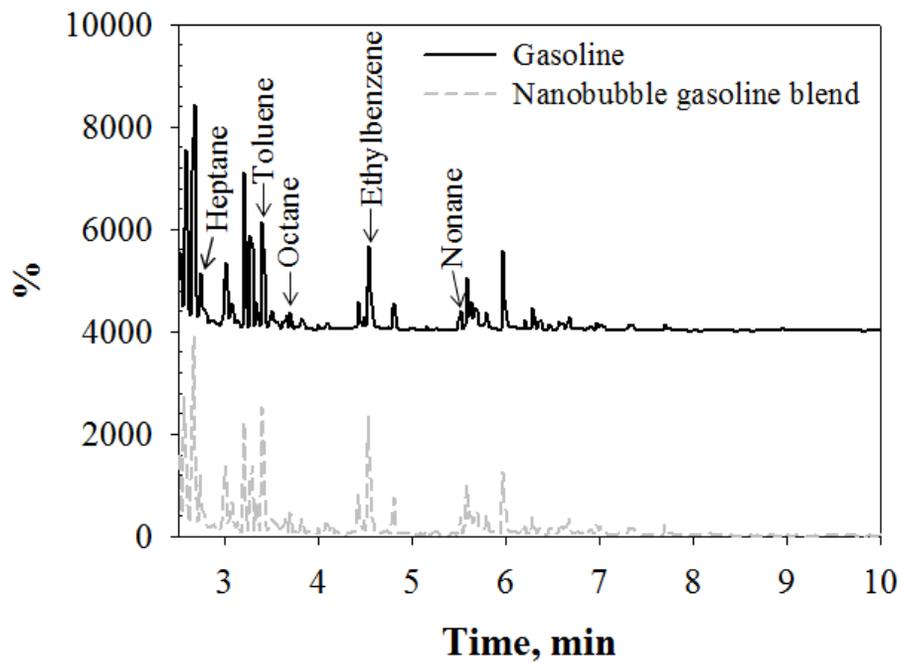


Fig. 6.5 Gas chromatography/mass spectrometry analysis of conventional gasoline and nanobubble gasoline blend.

6.4 요약

본 장에서는 3 장에서 내린 결론으로부터 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 가솔린 내에 나노버블을 생성했다. 생성된 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 물성 (점도, 표면 장력, 밀도 등)을 측정했으며, 두 가솔린을 이용해 엔진 시험 (엔진 부하: 40 → 80 %, 엔진 회전 속도: 2000 rpm)을 수행하고 제동 출력과 연료 소비율을 조사했다. 또한 기체 크로마토그래피/질량 분석법을 이용한 성분 분석을 수행함으로써 획득한 결과를 고찰했다.

획득한 연구 결과는 다음과 같이 열거해 정리할 수 있다.

- (1) 수소 기체와 가솔린를 이용해 감압 기법으로 나노버블을 생성했으며, 생성된 나노버블의 개체수, 평균 및 모드 직경은 각각 $11.35 \pm 3.89 \times 10^8$ particles/ml, 149.00 ± 7.81 nm, 149.67 ± 12.01 nm 로 측정되었다.
- (2) 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 점도는 각각 0.55 mPa·s 와 0.58 mPa·s 로 측정되었다. 또한 두 가솔린의 표면 장력은 각각 13.93 mN 와 13.54 mN 으로 측정되었다. 이 외에도 밀도, 수소 함량, 수분 함량, 저위 발열량을 측정했으며, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린 사이에는 물성의 차이가 거의 나타나지 않음을 확인했다. 이는 나노버블 혼합

가솔린 생성 공정이 가솔린의 물성을 크게 변화시키지 않는다는 사실을 의미한다.

(3) 엔진 시험을 통해 제동 출력을 측정했으며, 나노버블 혼합 가솔린은 모든 엔진 부하 조건에서 일반 가솔린에 비해 향상된 제동 출력을 보여주었다. 엔진 부하가 40 %일 때 가장 큰 출력 향상이 나타났으며, 이 때, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 제동 출력은 각각 26.98 ± 0.15 kW 와 25.95 ± 0.04 kW 로 측정되었다.

(4) 엔진 시험을 통해 연료 소비율을 측정했으며, 나노버블 혼합 가솔린의 경우, 모든 엔진 부하 조건에서 일반 가솔린에 비해 낮은 연료소비율을 보여주었다. 연료 소비율이 가장 향상된 조건은 엔진 부하가 40 %인 경우였으며, 이 때, 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 연료 소비율은 각각 269.35 ± 1.72 g/kWh 와 290.95 ± 0.15 g/kWh 로 측정되었다.

(5) 나노버블 혼합 가솔린 내 수소 기체의 작은 부피비 (1.57×10^{-3} vol%)를 고려했을 때, 수소 외 연소 특성 향상 인자가 존재함을 알 수 있다. 이는 기체 크로마토그래피/질량 분석법을 이용한 성분 분석을 통해 확인할 수 있었으며, 두 가솔린의 성분 분석 결과로부터 나노버블 생성 과정에 의해 치환 반응이 일어나 가솔린의 성분이 변화함을 알 수 있다. 따라서

나노버블 혼합 연료의 연소 반응 향상은 수소 원자의 첨가에 의한 연료의 화학적 구성 요소 변화에도 일부 의존하는 것으로 예상할 수 있다.

이와 같은 사실들로부터 연료 내에 분산된 나노버블 또는 연료 내 나노버블 생성 과정을 통해 연료의 연소 특성을 향상시킬 수 있다고 결론지을 수 있다.

제 7 장 결론

본 연구에서는 긴 수명, 넓은 비표면적, 다양한 응용 분야와 같은 장점들로 인해 2000 년대부터 본격적인 연구가 이루어지기 시작한 나노버블의 생성 기법, 나노버블의 특성, 나노버블의 응용에 관한 연구를 수행했다.

나노버블의 생성 기법에 관한 연구를 통해 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용해 나노버블이 생성가능한 단위 공정을 확립하고, 이를 임의의 분위기 하에서 소정의 시간 동안 반복함으로써 나노버블의 개체수가 지속적으로 증가되어 고농도 나노버블이 생성될 수 있는 나노버블 생성 기법을 개발했다. 또한 언급한 3 가지 기법을 통해 생성된 나노버블의 입도 특성 및 안정성 (수명)과 적용가능한 용매를 비교함으로써 나노버블의 열적 특성을 규명하고, 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료를 개발하기 위한 최적의 나노버블 생성 기법을 선정했다.

또한 나노버블의 열적 특성에 관한 연구를 통해 나노버블의 열적 안정성과 나노버블 핵생성에 관한 현상을 규명했으며, 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료를 제조하고 이를 이용한 세포 배양 실험 및 연소 시험을 통해 나노버블이 세포 증식 (섬유아 세포, 조골 세포)과 연소 특성 (출력, 연료소비율)에 미치는 영향을 살펴봄으로써 나노버블의 공학적 유용성을 조사했다.

본 연구를 통해 획득한 연구 결과들을 요약하면 다음과 같이 열거할 수 있다.

(1) 감압/캐비테이션/기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법 개발 (2 장)

2 장에서는 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법의 정의 및 나노버블 생성 원리를 정리했으며, 각각의 기법을 이용해 생성한 나노버블을 입도 분석하여 이들의 모드 직경, 평균 직경, 개체수를 조사했다.

모든 기법에서 직경이 200 nm 이하인 나노버블이 2.0×10^8 particles/ml 이상 생성되었으며, 생성 기법에 대한 모드 및 평균 직경의 의존성은 찾아볼 수 없었다. 그러나 기체 종류를 제어할 수 있는 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 추가 연구를 진행하는 것이 공학적 측면에서 나노버블의 안정성, 잠재적 응용 분야, 상용화 가능성 등을 검증하는데 있어 바람직할 것이라는 결론을 얻었다.

(2) 감압/기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 및 나노버블의 안정성 (3 장)

3 장에서는 감압 및 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수와 가솔린에 생성된 나노버블의 안정성을 조사하기 위해 시간 경과에 따른 입도 분석과 제타 전위 측정을 수행했다.

감압을 이용한 나노버블 생성 기법과 달리 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법은 고속으로 10.0×10^8 particles/ml 수준의 개체수를 갖는 나노버블 수를 생성하는데 유리함을 확인했다. 또한 나노버블 생성 기법에 관계없이 나노버블은 이론적 안정성에 비해 매우 뛰어난 안정성 (나노버블 수: 최소 7 일, 나노버블 혼합 가솔린: 최소 121 일)을 보였지만, 생성 기법에 따라 생성 가능한 용매에 제한 (감압: 증류수, 가솔린, 기-액 혼합: 증류수)이 있었다. 이와 같은 사실들로부터 액체의 종류에 무관하게 적용 가능하며, 생성된 나노버블의 안정성이 현저하게 뛰어난 감압 기법이 더욱 뛰어난 기법이라는 결론을 얻을 수 있다.

(3) 감압을 이용한 나노버블 생성 및 나노버블의 열적 안정성 (4 장)

4 장에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 증류수 내에 나노버블을 생성했으며, 나노버블 수를 가열하고 입도 분석함으로써 나노버블의 열에 대한 안정성을 조사했다. 또한 증류수에 대한 가열 및 가열 후 냉각 실험을 반복하고 입도 분석 및 용존 산소 농도를 측정함으로써 나노버블의 거동을 조사했다.

감압 기법으로 생성한 나노버블 수를 가열할 경우, 가열 온도에 비례하는 개체수 증가 현상이 나타났다. 그러나 평균 및 모드 직경의 경우, 가열 온도에 의존하지 않음을 확인했다. 이와 같은 개체수 증가 현상은 증류수에서도 동일하게 나타났으므로 가열에 의한 개체수 증가는 균질 핵생성에 의한

것임을 알 수 있다. 또한 증류수의 초기 용존 기체 농도 (8.04 ± 0.48 mg/l)를 고려했을 때, 기체로 과포화된 용액은 나노버블 생성에 필요한 전제조건이 아님을 알 수 있다. 더하여 증류수의 가열을 통해 생성된 나노버블 역시 열적 안정성이 매우 뛰어났으며, 반복적인 열처리를 통해 나노버블의 개체수는 용존 기체 농도에 큰 영향을 받는다는 사실을 확인했다.

이와 같은 사실들로부터 나노버블은 대단히 안정하고 일단 생성된 나노버블은 쉽게 제거할 수 없음을 알 수 있으며, 기체로 과포화된 용액은 나노버블 생성에 있어 필수적인 조건이 아니라는 결론을 얻을 수 있다.

(4) 나노버블 혼합 배양 배지 및 이를 이용한 세포 배양 (5 장)

5 장에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 증류수 내에 나노버블을 생성했으며, 이를 배양 배지에 혼합함으로써 나노버블 혼합 배양 배지를 제조했다. 또한 나노버블 혼합 배양 배지를 이용한 세포 배양 실험 (섬유아 세포, 조골 세포)을 진행하고, 배양되는 세포를 촬영함으로써 나노버블이 세포 배양에 미치는 영향을 조사했다.

나노버블 혼합 배양 배지를 제조하면서 첨가되는 증류수에 의해 세포 성장 및 분열이 악화될 것으로 예측할 수 있다. 그러나 본 연구를 통해 나노버블 혼합 배양 배지는 대조군에 비해 뛰어난 세포 증식률을 나타냄을 확인했으며, 이를 통해 나노버블이 세포 증식률에 미치는 긍정적인 효과가 증류수 첨가에 의한 부정적인 효과보다 더욱 크다는 사실을 알 수 있다.

이러한 결과는 나노버블에 의한 세포질 유동 향상, 세포 접착 향상, 세포막 기능 변화에 의해 나타날 수 있다.

이와 같은 사실들로부터 배양 배지를 구성하는 성분의 농도가 낮아지더라도 나노버블을 첨가함으로써 세포 증식률을 향상시킬 수 있음을 알 수 있으며, 나노버블 혼합 배양 배지를 이용함으로써 혈청 사용량을 줄일 수 있다는 결론을 얻을 수 있다.

(5) 나노버블 혼합 연료 및 이를 이용한 연소 시험 (6 장)

6 장에서는 감압을 이용한 나노버블 생성 기법을 이용해 가솔린 내에 나노버블을 생성하고, 생성된 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 물성(점도, 표면 장력, 밀도 등)을 측정했다. 또한 두 가솔린을 이용해 엔진 시험 및 성분 분석을 수행해 나노버블 혼합 가솔린의 연소 특성을 조사했다.

나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 물성 측정 실험으로부터 가솔린 내 나노버블 생성 공정은 가솔린의 물성을 크게 변화시키지 않는다는 사실을 확인할 수 있었다. 또한 엔진 시험을 통해 측정한 제동 출력 및 연료 소비율로부터 엔진 부하와 엔진 회전 속도가 각각 40 %와 2000 rpm 일 때, 가장 큰 효과가 나타남을 알 수 있었다 (제동 출력 4.0 % 향상, 연료 소비율 7.4 % 향상). 더하여 나노버블 혼합 가솔린과 일반 가솔린의 성분 분석을 통해 앞서 획득한 연소 특성의 향상은 수소 기체의 특성과 가솔린 성분 변화에 기인함을 확인할 수 있었다.

이와 같은 사실들로부터 연료 내에 분산된 나노버블 또는 연료 내 나노버블 생성 과정을 통해 연료의 연소 특성을 향상시킬 수 있다고 결론지을 수 있다.

그러므로, 본 연구를 통해, 감압 기법은 안정성이 뛰어난 고농도 나노버블을 생성할 수 있으며, 생성된 나노버블 용액은 세포 배양 배지와 연료에 응용될 수 있는 잠재력이 매우 크다는 사실을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- [1] W. B. Zimmerman, V. Tesař, and H. H. Bandulasena, "Towards energy efficient nanobubble generation with fluidic oscillation", *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **16**, 350-356, 2011.
- [2] G. G. Stokes, *On the effect of the internal friction of fluids on the motion of pendulums* (Pitt Press, 1851), Vol. 9.
- [3] K. Ebina, K. Shi, M. Hirao, J. Hashimoto, Y. Kawato, S. Kaneshiro, T. Morimoto, K. Koizumi, and H. Yoshikawa, "Oxygen and air nanobubble water solution promote the growth of plants, fishes, and mice", *PloS one* **8**, e65339, 2013.
- [4] K. Yamasaki, K. Uda, and K. Chuhjoh, "Wastewater treatment device"(*Google Patents*, 2008).
- [5] Y. Wang, X. Li, Y. Zhou, P. Huang, and Y. Xu, "Preparation of nanobubbles for ultrasound imaging and intracellular drug delivery", *International journal of pharmaceutics* **384**, 148-153, 2010.
- [6] Q.-L. Zhou, Z.-Y. Chen, Y.-X. Wang, F. Yang, Y. Lin, and Y.-Y. Liao, "Ultrasound-mediated local drug and gene delivery using nanocarriers", *BioMed research international* **2014**, 2014.
- [7] G. Liu, Z. Wu, and V. S. Craig, "Cleaning of protein-coated surfaces using nanobubbles: an investigation using a quartz crystal microbalance", *The Journal of Physical Chemistry C* **112**, 16748-16753, 2008.
- [8] S. Calgaroto, K. Wilberg, and J. Rubio, "On the nanobubbles interfacial properties and future applications in flotation", *Minerals Engineering* **60**, 33-40, 2014.

- [9] S. Kato, D. Matsuoka, and N. Miwa, "Antioxidant activities of nano-bubble hydrogen-dissolved water assessed by ESR and 2, 2'-bipyridyl methods", *Materials Science and Engineering: C* **53**, 7-10, 2015.
- [10] E. Hemmingsen, "Encyclopedia of Surface and Colloid Science, vol. 4, chap. Spontaneous Gas Bubble Formation in Water"(Marcel Dekker, New York, 2002).
- [11] R. C. Tolman, "The effect of droplet size on surface tension", *The journal of chemical physics* **17**, 333-337, 1949.
- [12] G. Nagayama, T. Tsuruta, and P. Cheng, "Molecular dynamics simulation on bubble formation in a nanochannel", *International Journal of Heat and Mass Transfer* **49**, 4437-4443, 2006.
- [13] M. Matsumoto and K. Tanaka, "Nano bubble—Size dependence of surface tension and inside pressure", *Fluid dynamics research* **40**, 546-553, 2008.
- [14] S. Liu, Y. Kawagoe, Y. Makino, and S. Oshita, "Effects of nanobubbles on the physicochemical properties of water: The basis for peculiar properties of water containing nanobubbles", *Chemical Engineering Science* **93**, 250-256, 2013.
- [15] Y. Nakatake, S. Kisu, K. Shigyo, T. Eguchi, and T. Watanabe, "Effect of nano air-bubbles mixed into gas oil on common-rail diesel engine", *Energy* **59**, 233-239, 2013.
- [16] M. Alheshibri, J. Qian, M. Jehannin, and V. S. Craig, "A History of Nanobubbles", *Langmuir*, 2016.
- [17] A. Gurung, O. Dahl, and K. Jansson, "The fundamental phenomena of nanobubbles and their behavior in wastewater treatment technologies", *Geosystem Engineering* **19**, 133-142, 2016.
- [18] Y. Ito, K. Aoki, S. Tokunaga, and M. Yoshizawa, "Instrument-cleaning method that uses soaking with nanobubble water"(Google Patents, 2011).

- [19] H. Tsuge, *Micro-and Nanobubbles: Fundamentals and Applications* (CRC Press, 2014).
- [20] A. S. Najafi, J. Drelich, A. Yeung, Z. Xu, and J. Masliyah, "A novel method of measuring electrophoretic mobility of gas bubbles", *Journal of colloid and interface science* **308**, 344-350, 2007.
- [21] M. Kukizaki and M. Goto, "Size control of nanobubbles generated from Shirasuporous-glass (SPG) membranes", *Journal of membrane science* **281**, 386-396, 2006.
- [22] S.-H. Cho, J.-Y. Kim, J.-H. Chun, and J.-D. Kim, "Ultrasonic formation of nanobubbles and their zeta-potentials in aqueous electrolyte and surfactant solutions", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **269**, 28-34, 2005.
- [23] T. M. Krupka, L. Solorio, R. E. Wilson, H. Wu, N. Azar, and A. A. Exner, "Formulation and characterization of echogenic lipid-pluronic nanobubbles", *Molecular pharmaceutics* **7**, 49-59, 2009.
- [24] Y. Zong, M. Wan, S. Wang, and G. Zhang, "Optimal design and experimental investigation of surfactant encapsulated microbubbles", *Ultrasonics* **44**, e119-e122, 2006.
- [25] J. A. Feshitan, C. C. Chen, J. J. Kwan, and M. A. Borden, "Microbubble size isolation by differential centrifugation", *Journal of colloid and interface science* **329**, 316-324, 2009.
- [26] B. E. Oeffinger and M. A. Wheatley, "Development and characterization of a nano-scale contrast agent", *Ultrasonics* **42**, 343-347, 2004.
- [27] T. L. Hwang, Y. K. Lin, C. H. Chi, T. H. Huang, and J. Y. Fang, "Development and evaluation of perfluorocarbon nanobubbles for apomorphine delivery", *Journal of*

pharmaceutical sciences **98**, 3735-3747, 2009.

- [28] J. Franke, V. Abs, C. Zizzadoro, and G. Abraham, "Comparative study of the effects of fetal bovine serum versus horse serum on growth and differentiation of primary equine bronchial fibroblasts", *BMC veterinary research* **10**, 1, 2014.
- [29] S. Paranjape, "Goat serum: an alternative to fetal bovine serum in biomedical research", *Indian journal of experimental biology* **42**, 26-35, 2004.
- [30] P. Nanda, P. Swain, S. Nayak, S. Dash, P. Routray, S. Swain, and B. Patra, "Goat serum as an alternative to establish cell culture from Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*", *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* **45**, 148-151, 2009.
- [31] D. Cánovas and N. Bird, "Human AB serum as an alternative to fetal bovine serum for endothelial and cancer cell culture", *Altex* **29**, 426, 2012.
- [32] J. Zhang and D. Robinson, "Development of animal-free, protein-free and chemically-defined media for NS0 cell culture", *Cytotechnology* **48**, 59-74, 2005.
- [33] S. Verhelst and T. Wallner, "Hydrogen-fueled internal combustion engines", *Progress in Energy and Combustion Science* **35**, 490-527, 2009.
- [34] S. H. Yoon and C. S. Lee, "Effect of undiluted bioethanol on combustion and emissions reduction in a SI engine at various charge air conditions", *Fuel* **97**, 887-890, 2012.
- [35] S. Wang, C. Ji, B. Zhang, and X. Liu, "Performance of a hydroxygen-blended gasoline engine at different hydrogen volume fractions in the hydroxygen", *international journal of hydrogen energy* **37**, 13209-13218, 2012.
- [36] I. Schifter, L. Diaz, J. Gómez, and U. Gonzalez, "Combustion characterization in a single cylinder engine with mid-level hydrated ethanol–gasoline blended fuels", *Fuel* **103**, 292-298, 2013.

- [37] C. White, R. Steeper, and A. Lutz, "The hydrogen-fueled internal combustion engine: a technical review", *International journal of hydrogen energy* **31**, 1292-1305, 2006.
- [38] M. Ball and M. Wietschel, "The future of hydrogen—opportunities and challenges", *International Journal of Hydrogen Energy* **34**, 615-627, 2009.
- [39] T. Veziro and F. Barbir, "Hydrogen: the wonder fuel", *International Journal of Hydrogen Energy* **17**, 391-404, 1992.
- [40] R. H. Ganesh, V. Subramanian, V. Balasubramanian, J. Mallikarjuna, A. Ramesh, and R. Sharma, "Hydrogen fueled spark ignition engine with electronically controlled manifold injection: An experimental study", *Renewable energy* **33**, 1324-1333, 2008.
- [41] T. Miyamoto, H. Hasegawa, M. Mikami, N. Kojima, H. Kabashima, and Y. Urata, "Effect of hydrogen addition to intake gas on combustion and exhaust emission characteristics of a diesel engine", *international journal of hydrogen energy* **36**, 13138-13149, 2011.
- [42] M. S. Kumar, A. Ramesh, and B. Nagalingam, "Use of hydrogen to enhance the performance of a vegetable oil fuelled compression ignition engine", *International Journal of Hydrogen Energy* **28**, 1143-1154, 2003.
- [43] C. Ji, S. Wang, and B. Zhang, "Performance of a hybrid hydrogen—gasoline engine under various operating conditions", *Applied energy* **97**, 584-589, 2012.
- [44] M. A. Resul and S. Bagdadi, "A study on the hydrogen ethyl alcohol dual fuel spark ignition engine—energy conversion and management", *Int J Hydrogen Energy* **13**, 199-204, 2003.
- [45] C. Ji and S. Wang, "Effect of hydrogen addition on combustion and emissions performance of a spark ignition gasoline engine at lean conditions", *International journal of hydrogen Energy* **34**, 7823-7834, 2009.

- [46] H. Zhao, R. Stone, and L. Zhou, "Analysis of the particulate emissions and combustion performance of a direct injection spark ignition engine using hydrogen and gasoline mixtures", *international journal of hydrogen energy* **35**, 4676-4686, 2010.
- [47] R. C. Hamme and S. R. Emerson, "The solubility of neon, nitrogen and argon in distilled water and seawater", *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **51**, 1517-1528, 2004.
- [48] H. E. Garcia and L. I. Gordon, "Oxygen solubility in seawater: Better fitting equations", *Limnology and oceanography* **37**, 1307-1312, 1992.
- [49] T. E. Crozier and S. Yamamoto, "Solubility of hydrogen in water, sea water, and sodium chloride solutions", *Journal of Chemical and Engineering Data* **19**, 242-244, 1974.
- [50] L. Gevantman, "Solubility of selected gases in water", *Nitric oxide (NO)* **308**, 10-14, 2000.
- [51] K. Kubota, S. Hayashi, and M. Inaoka, "A convenient experimental method for measurement of zeta-potentials generating on the bubble suspended in aqueous surfactant solutions", *Journal of colloid and interface science* **95**, 362-369, 1983.
- [52] K. Okada and Y. Akagi, "Method and apparatus to measure the ζ -potential of bubbles", *Journal of chemical engineering of Japan* **20**, 11-15, 1987.
- [53] Bubble, form. Retrieved 27 Oct. 2016 from <http://terms.naver.com/entry.nhn?docId=2318100&cid=42419&categoryId=42419>
- [54] A. W. Nienow, M. Edwards, and N. Harnby, *Mixing in the process industries* (Butterworth-Heinemann, 1997).
- [55] OHR aerator. Retrieved 27 Oct. 2016 from <http://www.ohr-labo.com/aerator.html>

- [56] F. F. Peng and X. Yu, "Pico–nano bubble column flotation using static mixer-venturi tube for Pittsburgh No. 8 coal seam", *International Journal of Mining Science and Technology* **25**, 347-354, 2015.
- [57] Zeta potential. Retrieved 28 Oct. 2016 from https://en.wikipedia.org/wiki/Zeta_potential
- [58] A. Agarwal, W. J. Ng, and Y. Liu, "Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment", *Chemosphere* **84**, 1175-1180, 2011.
- [59] T. Leighton, *The acoustic bubble* (Academic press, 2012).
- [60] F. Y. Ushikubo, T. Furukawa, R. Nakagawa, M. Enari, Y. Makino, Y. Kawagoe, T. Shiina, and S. Oshita, "Evidence of the existence and the stability of nano-bubbles in water", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **361**, 31-37, 2010.
- [61] H. Ikeura, F. Kobayashi, and M. Tamaki, "Removal of residual pesticide, fenitrothion, in vegetables by using ozone microbubbles generated by different methods", *Journal of Food Engineering* **103**, 345-349, 2011.
- [62] I. A. f. R. o. Cancer, "Occupational exposures in petroleum refining; crude oil and major petroleum fuels", *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans* **45**, 1988.
- [63] M. Riazi and Y. Roomi, "A method to predict solubility of hydrogen in hydrocarbons and their mixtures", *Chemical Engineering Science* **62**, 6649-6658, 2007.
- [64] T. Tsuji, Y. Shinya, T. Hiaki, and N. Itoh, "Hydrogen solubility in a chemical hydrogen storage medium, aromatic hydrocarbon, cyclic hydrocarbon, and their mixture for fuel cell systems", *Fluid phase equilibria* **228**, 499-503, 2005.
- [65] L. Ratke and P. Voorhees, "Growth and Coarsening: Ripening in Materials

- Processing. 2002"(Berlin: Springer Verlag).
- [66] S. Ljunggren and J. C. Eriksson, "The lifetime of a colloid-sized gas bubble in water and the cause of the hydrophobic attraction", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **129**, 151-155, 1997.
- [67] R. Sander, "Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent", *Atmospheric Chemistry & Physics* **15**, 2015.
- [68] K. Ohgaki, N. Q. Khanh, Y. Joden, A. Tsuji, and T. Nakagawa, "Physicochemical approach to nanobubble solutions", *Chemical Engineering Science* **65**, 1296-1300, 2010.
- [69] J. H. Weijs, J. R. Seddon, and D. Lohse, "Diffusive shielding stabilizes bulk nanobubble clusters", *ChemPhysChem* **13**, 2197-2204, 2012.
- [70] R. Finsy, "On the critical radius in Ostwald ripening", *Langmuir* **20**, 2975-2976, 2004.
- [71] A. W. Adamson and A. P. Gast, "Physical chemistry of surfaces", 1967.
- [72] E. Talu, K. Hettiarachchi, R. L. Powell, A. P. Lee, P. A. Dayton, and M. L. Longo, "Maintaining monodispersity in a microbubble population formed by flow-focusing", *Langmuir* **24**, 1745-1749, 2008.
- [73] S. C. Parker and C. T. Campbell, "Kinetic model for sintering of supported metal particles with improved size-dependent energetics and applications to Au on TiO₂ (110)", *Physical Review B* **75**, 035430, 2007.
- [74] M. Jak, C. Konstapel, A. Van Kreuningen, J. Verhoeven, and J. Frenken, "Scanning tunnelling microscopy study of the growth of small palladium particles on TiO₂ (110)", *Surface science* **457**, 295-310, 2000.
- [75] C. Granqvist and R. Buhrman, "Size distributions for supported metal catalysts:

- Coalescence growth versus ostwald ripening", *Journal of Catalysis* **42**, 477-479, 1976.
- [76] J. McCarty, G. Malukhin, D. Poojary, A. Datye, and Q. Xu, "Thermal coarsening of supported palladium combustion catalysts", *The Journal of Physical Chemistry B* **109**, 2387-2391, 2005.
- [77] A. K. Datye, Q. Xu, K. C. Kharas, and J. M. McCarty, "Particle size distributions in heterogeneous catalysts: What do they tell us about the sintering mechanism?", *Catalysis today* **111**, 59-67, 2006.
- [78] R. S. Goetze and A. K. Datye, "Model oxide supports for studies of catalyst sintering at elevated temperatures", *Topics in Catalysis* **46**, 3-9, 2007.
- [79] K. Kikuchi, A. Ioka, T. Oku, Y. Tanaka, Y. Saihara, and Z. Ogumi, "Concentration determination of oxygen nanobubbles in electrolyzed water", *Journal of colloid and interface science* **329**, 306-309, 2009.
- [80] P. Somasundaran, *Encyclopedia of surface and colloid science* (CRC press, 2006), Vol. 2.
- [81] J. Van der Minne and P. Hermanie, "Electrophoresis measurements in benzene—correlation with stability. II. results of electrophoresis, stability, and adsorption", *Journal of Colloid Science* **8**, 38-52, 1953.
- [82] R. J. Pugh, T. Matsunaga, and F. M. Fowkes, "The dispersibility and stability of carbon black in media of low dielectric constant. 1. Electrostatic and steric contributions to colloidal stability", *Colloids and Surfaces* **7**, 183-207, 1983.
- [83] N. Kallay, *Interfacial Dynamics* (CRC Press, 2000), Vol. 88.
- [84] D. McGown, G. Parfitt, and E. Willis, "Stability of non-aqueous dispersions. I. The relationship between surface potential and stability in hydrocarbon media", *Journal*

- of Colloid Science* **20**, 650-664, 1965.
- [85] P. Debye and H. Falkenhagen, "Frequency dependence of the conductivity and dielectric constant of a strong electrolyte" *Physikalische Zeitschrift* **29**, 121-132, 1928.
- [86] E. Talu, K. Hettiarachchi, S. Zhao, R. L. Powell, A. P. Lee, M. L. Longo, and P. A. Dayton, "Tailoring the size distribution of ultrasound contrast agents: possible method for improving sensitivity in molecular imaging", *Molecular imaging* **6**, 384, 2007.
- [87] S. Sirsi, J. Feshitan, M. Borden, and S. Homma, in *2009 IEEE International Ultrasonics Symposium* (IEEE, 2009), pp. 271-274.
- [88] M. Kaya, S. Feingold, J. Streeter, K. Hettiarachchi, A. P. Lee, and P. A. Dayton, in *2009 IEEE International Ultrasonics Symposium* (IEEE, 2009), pp. 1813-1816.
- [89] J. E. Streeter, R. Gessner, I. Miles, and P. A. Dayton, "Improving sensitivity in ultrasound molecular imaging by tailoring contrast agent size distribution: in vivo studies", *Molecular imaging* **9**, 87, 2010.
- [90] I. Webb, M. Arora, R. Roy, S. Payne, and C.-C. Coussios, "Dynamics of gas bubbles in time-variant temperature fields", *Journal of Fluid Mechanics* **663**, 209-232, 2010.
- [91] R. P. Berkelaar, J. R. Seddon, H. J. Zandvliet, and D. Lohse, "Temperature dependence of surface nanobubbles", *ChemPhysChem* **13**, 2213-2217, 2012.
- [92] S. Yang, S. M. Dammer, N. Bremond, H. J. Zandvliet, E. S. Kooij, and D. Lohse, "Characterization of nanobubbles on hydrophobic surfaces in water", *Langmuir* **23**, 7072-7077, 2007.
- [93] Z. Xue-Hua, L. Gang, W. Zhi-Hua, Z. Xiao-Dong, and H. Jun, "Effect of temperature on the morphology of nanobubbles at mica/water interface", *Chinese Physics* **14**,

- 1774, 2005.
- [94] X. H. Zhang, X. D. Zhang, S. T. Lou, Z. X. Zhang, J. L. Sun, and J. Hu, "Degassing and temperature effects on the formation of nanobubbles at the mica/water interface", *Langmuir* **20**, 3813-3815, 2004.
- [95] D. R. Lide, *CRC handbook of chemistry and physics* (CRC press, 2004), Vol. 85.
- [96] J. R. Seddon, E. S. Kooij, B. Poelsema, H. J. Zandvliet, and D. Lohse, "Surface bubble nucleation stability", *Physical review letters* **106**, 056101, 2011.
- [97] P. J. in't Veld, M. T. Stone, T. M. Truskett, and I. C. Sanchez, "Liquid structure via cavity size distributions", *The Journal of Physical Chemistry B* **104**, 12028-12034, 2000.
- [98] G. Graziano, "Water: cavity size distribution and hydrogen bonds", *Chemical Physics Letters* **396**, 226-231, 2004.
- [99] M. T. Stone, P. J. IN'T VELD, Y. Lu, and I. C. Sanchez, "Hydrophobic/hydrophilic solvation: inferences from Monte Carlo simulations and experiments", *Molecular Physics* **100**, 2773-2792, 2002.
- [100] A. V. Neimark and A. Vishnyakov, "The birth of a bubble: a molecular simulation study", *The Journal of chemical physics* **122**, 054707, 2005.
- [101] R. McGraw and D. T. Wu, "Kinetic extensions of the nucleation theorem", *The Journal of chemical physics* **118**, 9337-9347, 2003.
- [102] F. Ushikubo, S. Oshita, T. Furukawa, Y. Makino, Y. Kawagoe, and T. Shiina, in *Central theme, technology for all: sharing the knowledge for development. Proceedings of the International Conference of Agricultural Engineering, XXXVII Brazilian Congress of Agricultural Engineering, International Livestock Environment Symposium-ILES VIII, Iguassu Falls City, Brazil, 31st August to 4th*

- September, 2008 (International Commission of Agricultural Engineering (CIGR), Institut fur Landtechnik, 2008).
- [103] H. Matsuno, T. Ohta, A. Shundo, Y. Fukunaga, and K. Tanaka, "Simple surface treatment of cell-culture scaffolds with ultrafine bubble water", *Langmuir* **30**, 15238-15243, 2014.
- [104] J. Dzubiella, "Explicit and implicit modeling of nanobubbles in hydrophobic confinement", *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **82**, 3-12, 2010.
- [105] J. R. Seddon, D. Lohse, W. A. Ducker, and V. S. Craig, "A deliberation on nanobubbles at surfaces and in bulk", *ChemPhysChem* **13**, 2179-2187, 2012.
- [106] Y. Karagöz, E. Orak, L. Yüksek, and T. Sandalcı, "Effect of Hydrogen Addition on Exhaust Emissions and Performance of a Spark Ignition Engine", *Environmental Engineering and Management Journal* **14**, 665-672, 2015.
- [107] F. Ma, Y. Wang, H. Liu, Y. Li, J. Wang, and S. Ding, "Effects of hydrogen addition on cycle-by-cycle variations in a lean burn natural gas spark-ignition engine", *International Journal of Hydrogen Energy* **33**, 823-831, 2008.
- [108] C. Ji and S. Wang, "Effect of hydrogen addition on the idle performance of a spark ignited gasoline engine at stoichiometric condition", *International journal of hydrogen Energy* **34**, 3546-3556, 2009.
- [109] K. Varde, Combustion characteristics of small spark ignition engines using hydrogen supplemented fuel mixtures, Report No. 0148-7191, 1981.
- [110] N. Ozdor, M. Dulger, and E. Sher, Cyclic variability in spark ignition engines a literature survey, Report No. 0148-7191, 1994.
- [111] T. Shudo, S. Nabetani, and Y. Nakajima, "Analysis of the degree of constant volume and cooling loss in a spark ignition engine fuelled with hydrogen", *International*

Journal of Engine Research **2**, 81-92, 2001.

- [112] C. Ji, S. Wang, and B. Zhang, "Combustion and emissions characteristics of a hybrid hydrogen-gasoline engine under various loads and lean conditions", *International journal of hydrogen energy* **35**, 5714-5722, 2010.

[부록 1]

실험 목적

앞선 연구를 통해 기-액 혼합을 이용한 새로운 나노버블 생성 기법을 개발했으며, 이는 고속으로 고농도 나노버블 수를 생성하는데 뛰어난 성능을 확인했다. 본 부록에서는 기-액 혼합 기법을 통해 생성되는 나노버블 내 기체 충전 유/무를 확인함으로써 기-액 혼합 기법을 통해 생성된 나노입자는 기체로 충전된 나노버블임을 증명할 것이다.

실험 방법

본 연구에서는 감쇠 전반사 푸리에 변환 적외선 분광 분석 (Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectrometer, Thermo Nicolet 6700 with mercury-cadmium-telluride detector, Scinco Co., Ltd., Korea)을 통해 나노버블에 충전된 기체의 신호를 측정했다. 이를 위해, 적외선 활성 (infrared active)이 있는 이산화탄소 (purity: 99.999%, Shinyoung Gas Co., Korea)와 증류수 (No. 119, HPLC grade, Duksan Pure Chemicals Co., Korea)를 사용했다. 마지막으로 적외선 스펙트럼 (spectrum)을 기록하기 위해 사용된 분해능 (resolution), 주사 (scan) 횟수, 기록 범위는 각각 0.5 cm^{-1} , 200, 650~4000 cm^{-1} 이다.

실험 결과

적외선 분광 분석을 통해 획득한 결과를 Fig. A1 에 검은색 실선으로 나타냈다. 그림에서 볼 수 있듯이, 본 연구에서 생성한 증류수 내 이산화탄소 나노버블로부터 획득한 결과는 기관 상에 형성된 나노크기의 이산화탄소 및 일반적인 이산화탄소 (예: 대기 중의 이산화탄소)에서 획득한 적외선 스펙트럼과 완벽하게 동일함을 알 수 있다 (D. Lohse and X. Zhang, "Surface nanobubbles and nanodroplets", *Reviews of modern physics* **87**, 981-1035, 2015 and X. H. Zhang, A. Khan, and W. A. Ducker, "A nanoscale gas state", *Physical review letters* **98**, 136101, 2007). 그러므로 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 통해 생성되는 나노입자들은 기체로 충전된 나노버블임을 알 수 있다.

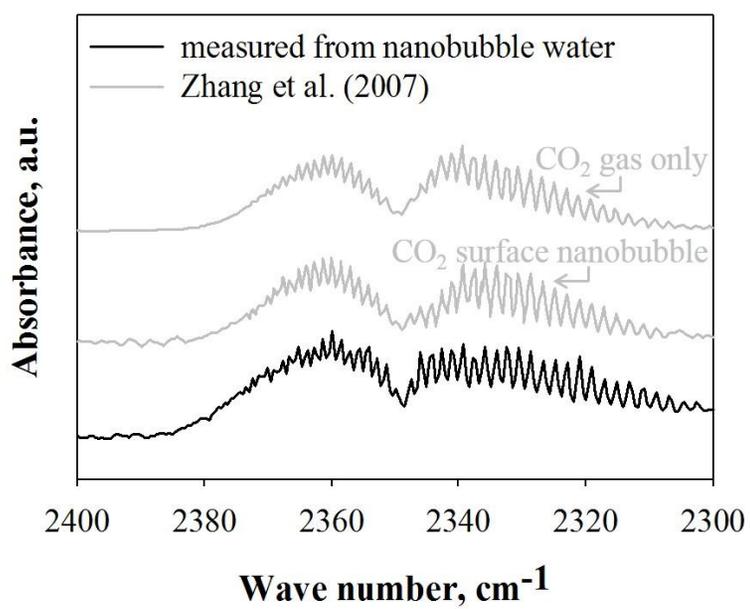


Fig. A1 Infrared spectra

국 문 초 록

나노버블의 생성 및 응용에 관한 연구

오 승 훈

기계공학부 설계/생산 전공

중앙대학교 대학원

나노버블은 긴 수명, 넓은 비표면적, 다양한 응용 분야와 같은 장점들로 인해 큰 관심을 받아 왔으나 작은 개체수, 낮은 잡음비, 불분명한 안정화 메커니즘과 같은 문제의 해결이 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 고농도 나노버블 용액이 생성가능한 생성 기법을 개발하고 기법들 간의 우위를 평가했으며, 이를 통해 언급한 문제들을 해결했다. 감압, 캐비테이션, 기-액 혼합을 이용한 나노버블 생성 기법을 개발했으며, 이들 기법은 증류수 내에 직경이 200 nm 이하인 버블의 개체수가 $2.0\sim 10.0 \times 10^8$ particles/ml 인 나노버블 용액을 생성하는데 유효함을 확인했다. 그러나 증류수와 연료 내에 나노버블이 생성 가능하고, 생성된 버블의 안정성이 가장 뛰어난 생성 기법은 감압 기법 (나노버블 수: 최소 7 일, 나노버블 혼합 가솔린: 최소 121 일)인 것으로 나타났다. 한편 기-액 혼합 기법의 경우, 가장 빠른 속도로 나노버블을 생성할 수 있지만 생성된 버블의 안정성이 감압 기법에 비해 상대적으로 떨어졌다. 이와 같은 나노버블의 뛰어난 안정성은 음전하로 대전된 표면 (초기 제타 전위: $-24.01\sim -30.51$ mV)에 의해 버블간 충돌 및

융합이 억제되는 것에 기인한다. 이에 더하여, 감압 기법을 통해 생성된 증류수 내 나노버블의 열적 안정성을 조사했다. 가열 실험을 통해 일단 생성된 나노버블은 쉽게 사라지지 않음 (최소 약 0.2×10^8 particles/ml)을 확인했으며, 나노버블의 안정성은 버블 주변의 용존 기체 농도에 의존하지만 과포화된 용액은 나노버블 생성에 필요한 전제조건이 아님을 확인했다. 마지막으로 나노버블의 공학적 유용성을 조사하기 위해 나노버블 혼합 배양 배지 및 연료를 제조하고 이를 이용한 세포 배양 및 연소 시험을 수행했다. 나노버블 혼합 배양 배지를 이용해 섬유아 세포와 조골 세포를 배양했으며, 이를 통해 나노버블이 혼합될 경우 (5~20 %), 세포 증식률이 향상됨 (36.97~111.78 %)을 확인했다. 이와 같은 증식률 향상은 나노버블 혼합 배양 배지에 증류수가 함유되어 있음에도 불구하고 나타났으며, 이를 통해 나노버블 혼합 배양 배지를 이용함으로써 배지 구성 성분 (예: 혈청)의 사용량을 줄일 수 있음을 알 수 있다. 또한 나노버블 혼합 가솔린을 생성하고 물성 측정, 연소 시험 (엔진 회전 속도: 2000 rpm, 엔진 부하: 40~80 %), 성분 분석을 수행했다. 이를 통해 나노버블 혼합 가솔린 생성 공정은 가솔린의 물성을 거의 변화시키지 않으며, 연료의 제동 출력 (0.7~4.0 % 증가)과 연료 소비율 (2.5~7.4 % 감소)이 향상시킴을 확인했다. 또한 나노버블 혼합 가솔린의 기체 크로마토그래피/질량 분석 결과로부터 가솔린의 화학적 조성이 변화되었음을 확인했다. 따라서 연소 특성의 향상은 수소 기체와 나노버블 또는 나노버블 생성 공정에 의해 변화된 가솔린의 화학적 구성에 기인함을 알 수 있다.

핵심어: 나노버블, 감압, 기-액 혼합, 나노버블 안정성, 입도 분석, 제타 전위, 세포 배양, 엔진 시험, 연소 특성, 기체 크로마토그래피/질량 분석

ABSTRACT

A Study on Nanobubble Generation and its Applications

Seung Hoon Oh

School of Mechanical Engineering

The Graduate School of Chung-Ang University

Nanobubbles have drawn great attention due to their long lifespan, large specific surface area, various applications in many fields, however, there are still unsolved problems such as small population number, low signal to noise (SN) ratio, and ambiguous stability mechanism. Thus, in this study, nanobubble generation methods which can fabricate high concentration nanobubble solution were developed and evaluated on their performance to solve the problems mentioned above. Decompression, Cavitation, Gas-liquid mixing type nanobubble fabrication method were developed, and results showed that these methods are effective to generate nanobubbles that are smaller than 200 nm in diameter and $2.0\sim 10.0 \times 10^8$ particles/ml in concentration. However, Decompression type method is the only method which can generate nanobubbles in both DI water and fuel. In addition, the stability of bubbles fabricated through Decompression type method showed a remarkable difference (Nanobubble water: 7 days at least, Nanobubble gasoline blend: 121 days at least). Meanwhile, Gas-liquid mixing type method is the most rapid method to fabricate nanobubbles, however, nanobubble stability is not as good as those fabricated through Decompression type method. Such an excellent stability of nanobubbles is due to negatively charged surface (initial ζ -potential: $-24.01\sim -30.51$

mV) which suppresses the bubble collision and coalescence. Moreover, thermal stability of nanobubbles fabricated through Decompression type method was investigated. The heating experiment showed that nanobubbles, once formed, do not disappear easily (about 0.2×10^8 particles/ml at least), and although their stability depends on dissolved gas concentration, the supersaturated solution is not a prerequisite for nanobubble formation. Lastly, to investigate the utility of nanobubble solution in engineering field, nanobubble blended culture medium and fuel were fabricated and then cell culture and engine test were performed. Fibroblasts and osteoblasts were cultured, and obtained results showed that mixed nanobubble water in culture medium (5~20 %) improves the cell proliferation (36.97~111.78 %). This improvement was obtained despite the presence of the DI water in nanobubble blended culture medium, and this means that nanobubble blended culture medium could be applied to reduce the amount of ingredient (ex: serum) usage in culture medium. Also, fabrication of nanobubble blended gasoline, measurement of its properties, engine test (engine speed: 2000 rpm, engine load: 40~80 %), and component analysis were performed. Obtained results showed that the nanobubbling process in gasoline does not make significant change of the gasoline properties, but improves the brake power (0.7~4.0 % increase) and fuel consumption (2.5~7.4 % decrease). In addition, gas chromatography/mass spectrum revealed that the chemical composition of the gasoline was changed during the nanobubble generation, specifically by means of replacement reactions of functional groups. Therefore, it is sure that improvements in combustion characteristics comes from hydrogen gas in gasoline and changed chemical composition of gasoline due to nanobubble or nanobubbling process.

Keywords: Nanobubble, Decompression, Gas-liquid mixing, Nanobubble stability, Particle analysis, ζ -potential, cell culture, Engine test, Combustion characteristics, Gas chromatography/mass spectrometry