

samk



Satakunnan ammattikorkeakoulu
Satakunta University of Applied Sciences

HILKKA MÄKITALO

Nanokuplat ja niiden vaikutukset eri menetelmillä

ENERGIA- JA YMPÄRISTÖTEKNIIKAN
TUTKINTO-OHJELMA
2025

TIIVISTELMÄ

Mäkitalo, Hilikka: Nanokuplat ja niiden vaikutukset eri menetelmillä
Opinnäytetyö, Satakunnan ammattikorkeakoulu
Tutkinto-ohjelma: Energia- ja ympäristötekniikka
Kesäkuu 2025
Sivumäärä: 97

Tässä työssä tutkittiin nanokuplien vaikutuksia eri menetelmillä. Työssä kokeiltiin erilaisia mittaamenetelmiä, joilla pyrittiin havaitsemaan nanokuplia sekä niiden fysikaalisia, kemiallisia ja mikrobiologisia vaikutuksia.

Nanokuplilla on monia erityisiä fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia, mutta niiden tarkka syntymekanismi ei ole täysin selvillä. Niiden poikkeuksellinen stabiilisuus nesteessä sekä romahtamisen tuottamat hetkelliset äärimmäiset olosuhteet ovat kiinnostavia tutkimus- ja sovelluskohteita. Nanokuplat voivat hajota joko dynaamisen ärsykkeen laukaisemana äkillisesti tai spontaanin liukemisen seurauksena lopulta romahtaen korkeiden sisäisten paineiden vaikutuksesta. Nanokuplia käytetään jo muun muassa jätevedenkäsittelyssä, kairvosteollisuudessa ja lääketieteessä ja uusia käyttökohteita tulee jatkuvasti lisää. Nanokuplien tuottoon on olemassa useita erilaisia menetelmiä, jotka tuottavat kuplia vaihdellen eri kokoisina ja eri konsentraatioissa.

Tässä työssä tutkittiin ilmananokuplien vaikutuksia vedessä oleviin bakteereihin, raudan hapettumiseen ja veden kiehumispisteeseen. Työssä pyrittiin myös kuvaamaan tuotettuja nanokuplia optisella mikroskoopilla. Työ toteutettiin laboratorio-olosuhteissa hyödyntäen ilmaa nanokuplien tuottoon hydrodynaamisen kavitaatiogeneraattorin avulla. Nanokuplien havaitseminen ja kuvaus osoittautui haastavaksi, vain muutamia nanokokoisia kuplia saatiin näkyviin optisella mikroskoopilla. Bakterisidisen vaikutuksen testaukseen valittiin kaksi eri bakteeria, *Enterococcus faecalis* ja *Legionella pneumophila*. Ensimmäiseen ei havaittu vaikutusta, mutta Legionellan kohdalla koe alkuvaiheessa viittasi lievään vaikutukseen, ja mahdollinen vaikutus todettiin myös biofilmin irtoamiseen. Raudan hapetuksessa käytettiin rauta(II)sulfaattia, jota pyrittiin hapettamaan nanokuplien avulla sekä hydrodynaamisen ärsykkeen kanssa että ilman ärsykettä. Raudan pitoisuutta näytteissä mitattiin spektrofotometrisesti. Vaikutuksia ei todettu verrattuna kontrollinäytteeseen. Veden kiehumispistettä sekä veden lämpenemisen nousunopeutta tutkittiin nanokuplavedellä ja kontrollinäytteellä. Tutkimuksessa havaittu hyvin pieni ero jäi mittausepä-tarkkuuden ja -vaihtelun rajoihin, joten vaikutusta ei todettu.

Yhteenvedona todetaan, että havaitut ilmananokuplien vaikutukset tutkittujen liuosten kemiallisiin, fysikaalisiin ja mikrobiologisiin ominaisuuksiin ovat vähäisiä. Tämä voi johtua tutkimusasetelmasta, tai mahdollisesti tuotettujen kuplien ominaisuuksista. Kuplien ominaisuuksia ei voitu mitata näissä koejärjestelyissä.

Avainsanat: Nanokupla, hydrodynaaminen kavitaatio, hydroksyyli-radikaali, *Enterococcus faecalis*, *Legionella pneumophila*, rautasulfaatin hapetus, kiehumispiste

ABSTRACT

Mäkitalo, Hilikka: Nanobubbles and their effects using different methods
Bachelor's thesis, Satakunta University of Applied Sciences
Energy and Environmental Engineering
June 2025
Number of pages: 97

This study was conducted to investigate nanobubbles and their physical, chemical and microbiological effects using different methods. Nanobubbles are characterized by many physicochemical properties, but the exact mechanism for their formation is still unclear. Their exceptional stability and the extreme conditions produced during bubble collapse continue to attract interest from researchers and industrial developers. Nanobubbles can collapse due to a dynamic stimulus, or they can spontaneously dissolve and collapse at the final moment as a result to high internal pressure.

Several applications are already in use, such as in wastewater treatment, the mining industry and the biomedical field and new applications are continuously emerging. There are several methods to produce nanobubbles, that produce different sizes and concentrations of bubbles.

This study investigated the effects of air nanobubbles on bacteria inactivation, the rate of iron oxidation, and the boiling point of water. An optical imaging of nanobubbles was also conducted. The work was done in a laboratory setting with a hydrodynamic cavitation generator that utilized air to generate nanobubbles. Optical microscopy imaging proved to be challenging, and only a few nanosized bubbles were successfully photographed. The bactericidal effects were tested on two different bacterial species, *Enterococcus faecalis* ja *Legionella pneumophila*. Nanobubbles showed no observable effect on *E. faecalis*, while *L. pneumophila* exhibited a slight initial response. A potential bio-film detachment effect was also noted. Iron(II)sulfate was used in the oxidation tests, both with and without dynamic stimulation. The concentration of iron in the samples was analyzed using a spectrophotometer. No difference in the oxidation rate was observed compared to the control. The boiling point and the heating rate of water were studied using nanobubble-treated water and a control sample. The very small difference observed falls within the margin of measurement accuracy, indicating that no significant effect was detected.

In conclusion, the physical, chemical and microbiological effects of air nanobubbles observed in this study were minimal. This may be due to the experimental setup, or the specific properties of the nanobubbles produced in this setup, which could not be measured.

Key words: Nanobubble, hydrodynamic cavitation, hydroxyl radical, *Enterococcus faecalis*, *Legionella pneumophila*, oxidation of ferro(II)sulfate, boiling point

ALKUSANAT

Haluan kiittää mahdollisuudesta toteuttaa opinnäytetyöni Satakunnan ammattikorkeakoulun Tutkimuskeskus Wanderissa. Erityisesti kiitos Wanderin tutkijalle ja ohjaajalleni Jussi Tammisselle, mikrobiologista osuutta ohjanneelle Wanderin tutkija Meija Kivisaarelle sekä keskuksen johtajalle Martti Latvalle työn mahdollistamisesta ja aiheen ehdotuksesta. Lämmin kiitos yhteistyöstä!

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	8
2 TYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	9
3 NANOKUPLAT	11
3.1 Nanokuplan synty ja ominaisuudet	11
3.2 Stabiilisuus	12
3.3 Zeta-potentiaali	16
3.4 Reaktiiviset happilajit (ROS)	19
3.5 Brownin liike ja ominaispinta-ala	22
3.6 Tuottomenetelmät	23
3.6.1 Kavitaatio	23
3.6.2 Hydrodynaaminen kavitaatio	25
3.6.3 Muut menetelmät	26
3.7 Käyttökohteet	27
3.8 Nanokuplien kuvaus	31
3.9 Nanokuplien bakterisidiset vaikutukset	31
3.10 Nanokuplien vaikutus raudan hapettumiseen	36
3.11 Veden kiehumispiste	40
4 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	41
4.1 Laitteisto	42
4.2 Käsittely SIO-nanokuplageneraattorilla	46
4.3 Nanokuplien havainnointi mikroskoopilla	47
4.4 Bakterisidisten vaikutusten kokeellinen osuus	48
4.5 Raudan hapettumisen kokeellinen osuus	50
4.6 Kiehumispisteen ja lämpötilan nousun kokeellinen osuus	52
5 TULOKSET	53
5.1 Nanokuplien kuvaus	53
5.2 Bakterisidinen vaikutus	57
5.3 Raudan hapettuminen	61
5.4 Veden kiehumispiste	65
6 JOHTOPÄÄTÖKSET	68
7 YHTEENVETO	70
LÄHTEET	74
LIITE 1: NANOKUPLIEN KUVAUS	83
LIITE 2: NANOKUPLIEN VAIKUTUKSET ENTEROCOCCUS FAECALIS- JA LEGIONELLA PNEUMOPHILA-BAKTEERIEN PITOISUUKSIIN	86

LIITE 3: RAUTA(II)SULFAATIN HAPETTUMINEN	92
LIITE 4: HYDRODYNAAMISELLA KAVITAATIOILLA KÄSITELLYN VEDEN KIEHUMISPISTE	96

SYMBOLI- JA LYHENNELUETTELO

ΔP	paine-ero
γ	pintajännitys
R	kuplan säde
C	kaasun pitoisuus nesteessä
κ_H	Henryn vakio
P	kaasun osapaine
OH^-	hydroksidi-ioni
ζ -potentiaali	zeta-potentiaali
H^+	vetyioni
$\cdot\text{OH}$	hydroksyyliiradikaali
$\cdot\text{O}$	happiradikaali
HTHP	high temperature, high pressure
PVT	paine, tilavuus, lämpötila
p_c	nesteen vetolujuus
p_v	kylläinen höyrynpaine
$\log p_{my}/ml$	pesäkettä muodostavaa yksikköä millilitrassa logaritimisella asteikolla
NEW	neutraali elektrolysoitu vesi
MNP-luku	Most Probable Number
Fe^{2+}	kahdenarvoinen rautaioni
redox	hapetus-pelkistysreaktio
SO_4^{2-}	sulfaatti-ioni
IV-vesi	ionivaihdettu vesi

1 JOHDANTO

Nanokuplat ovat kiinnostavia, nanomittakaavan kaasukuplia nesteessä, joiden ominaisuudet poikkeavat merkittävästi tavallisista kuplista. Tavallisten kuplien noustessa pinnalle ja puhjetessa, nanokuplat voivat pysyä nesteessä liukenematta ja häviämättä jopa kuukausia. Kuplan voimakkaasti kaareutunut ja negatiivisesti varautunut rajapinta mahdollistaa poikkeuksellisen korkean paineen kuplan sisälle, mikä vaikuttaa kaasun liukenemiseen, kuplan stabiilisuuteen ja mahdollistaa reaktiivisten happilajien muodostumisen kuplan romahtaessa. Kuplien sisällä ja niiden läheisyydessä syntyvät äärimmäiset, hetkelliset olosuhteet tarjoavat uudenlaisia lähestymistapoja moniin teknologiasovelluksiin.

Nano- ja mikrokuplat ovat herättäneet kasvavaa kiinnostusta tiedeyhteisössä viimeisten kahden vuosikymmenen aikana. Useissa tutkimuksissa on pyritty selvittämään näiden ilmiöiden taustalla vaikuttavia mekanismeja, ja tutkimusten tulokset ovat olleet osin ristiriitaisia keskenään. Nanokuplia tutkitaan soveltamalla pääosin partikkeli- ja kolloiditutkimuksen menetelmiä, sillä niitä varten ei ole kehitetty omia analyysi- ja mitausmenetelmiä. Suurin osa nanokupliin liittyvästä tutkimuksesta on tehty kontrolloiduissa laboratorio-olosuhteissa, ja laajamittaiset kenttätutkimukset käytännön kohteissa ovat edelleen harvinaisempia. Nanokuplien todetut erityisominaisuudet ja nanoteknologian merkityksen kasvu ovat edesauttaneet erilaisten sovellusten kehittämistä. Tekniikoita hyödynnetään jo monella alalla, esimerkiksi vedenkäsittelyssä, kaihovesteollisuudessa ja biolääketieteessä, ja uusia käyttökohteita kehitetään jatkuvasti.

Tässä opinnäytetyössä tarkastellaan Satakunnan Ammattikorkeakoulun Tutkimuskeskus Wanderilla tehtyjen nanokuplakokeiden tuloksia ja niistä tehtyjä johtopäätöksiä. Kokeet toteutettiin tutkimuskeskuksen nanokuplatutkimusten itsenäisenä osana kirjoittajan toimesta. Raportissa tarkastellaan nanokuplien muodostumismekanismeja ja ominaisuuksia aiemman tutkimuskirjallisuuden pohjalta sekä perehdytään aikaisempiin samankaltaisiin kokeellisiin tutkimuksiin ja yleiseen teoriaan käytetyistä

menetelmistä. Raportissa käydään läpi myös kokeellinen osuus, jossa esitellään käytetty menetelmä ja laitteisto, kuvataan koejärjestelyt ja suoritustapa, sekä analysoidaan saadut tulokset ja niiden pohjalta tehdyt johtopäätökset.

Tutkimuksia nanokuplista löytyi todella paljon, pääasialliset tiedonhakukanavat olivat Finna ja Google Scholar, mutta lisäksi hyödynnettiin myös hakupalveluita kuten ScienceDirect ja EBSCOhost. Tutkimukset pyrittiin valitsemaan uusimmista, mutta mukaan valittiin myös vanhempia tutkimuksia, jotka olivat olennaisia aiheen kannalta. Tekoälyä (ChatGPT) käytettiin aineiston hakuun, silloin, kun edellä mainituista hakupaikoista ei löytynyt oikeaa hakutermiä, eikä aiheeseen liittyvää tutkimusta. Tekoäly löysi tässä tapauksessa kahteen menetelmään liittyviä tutkimuksia. Myös yleiseen teoriaan löytyi sen kautta muutama tärkeä teos. Tekoälyn avulla löytyi myös englanninkielisille termeille paremmin sopivia suomennoksia sen ohjatessa materiaaliin, jossa termejä oli käytetty. Tekoälyä käytettiin myös lähdeluettelon tarkistamiseen.

2 TYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tarkastella hydrodynaamisen kavitaation avulla tuotettujen ilmananokuplien fysikaalisia, kemiallisia ja mikrobiologisia vaikutuksia ja havainnoida nanokuplia optisella mikroskoopilla. Nanokuplien vaikutukset eri menetelmillä valikoitui tutkimuskohteeksi sen ajankohtaisuuden ja yksinkertaisen toteutettavuuden vuoksi. Työn kokeellisessa osuudessa tarkastellaan eri menetelmiä nanokuplien vaikutusten havainnoinnissa laboratorio-olosuhteissa. Kokeillut menetelmät valikoituivat sen perusteella, mitä on mahdollista tutkia käytössä olevassa laboratoriossa jo olemassa olevilla laitteilla. Käytettyä koeasetelmaa ja laitteistoa on mahdollista skaalata tarvittaessa jatkotutkimuksiin tai pienimuotoiseen käytännön pilotti-kohteisiin.

Nanokuplamenetelmissä ja itse kuplissakin riittää vielä paljon tutkittavaa ja tähän tarpeeseen myös tämän raportin tutkimus on suunniteltu. Useimmat kirjallisuudessa raportoidut nanokuplatutkimukset ovat tehty laboratorio-olosuhteissa tietyn ajanjakson

aikana. Pitkäkestoisempia, käytännön kohteissa olevia, verrokkiryhmällä varustettuja tutkimuksia on suhteellisen vähän. Satakunnan ammattikorkeakoulun Tutkimuskeskus Wanderissa on käynnissä nanokuplatutkimuksia liittyen esimerkiksi vedenkäsittelyyn ja kastelumenetelmiin. Tutkimukset ovat osin toteutettu laboratoriomittakaavassa, mutta käynnissä on myös pilottimittakaavan käytännön tutkimuksia, joissa tuloksia seurataan useamman vuoden ajan.

Vesijohtoveden jakelujärjestelmien haasteita ovat pitkät verkostot, joissa veden laatu voi vaihdella, ja putkistoissa oleva veden lämpötila ei aina pysy optimaalisella tasolla. Talousveden laatuvaatimukset ovat korkeat, ja nanokuplatekniikalla voisi olla potentiaalia talousveden käsittelyssä. Se tarjoaa kemikaalittoman vaihtoehdon ja häviää vedestä jättämättä jäämiä tai sivutuotteita jälkeensä. Nanokuplien tuotantomenetelmät ovat usein kustannustehokkaita ja ekologisesti kestäviä ja helposti käyttövesiputkiston yhteyteen asennettavia. Menetelmän haasteena on kuitenkin nanokuplien ominaisuuksien, eli konsentraation, koon ja stabiilisuuden heikko ennustettavuus, mikä heikentää sen toimintavarmuutta. (Wang, T. ym., 2024).

Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, onko nanokuplilla vaikutuksia vedessä esiintyviin bakteereihin ja onko niillä vaikutusta veteen liuenneen raudan hapettamisessa. Pyrittiin selvittämään myös, onko nanokuplilla vaikutusta veden lämpötilan nousunopeuteen ja kiehumispisteeseen. Nanokuplia pyrittiin kuvaamaan, jotta niiden olemassaolo voitaisiin todeta.

Nanokuplat tuottavat vapaita happiradikaaleja, jolloin ne mahdollisesti toimivat bakteeria ja sen biofilmiä hajottavasti. Nanokuplat voivat olla vaihtoehtoinen menetelmä bakteerien kontrolloimiseksi, jolloin veteen ei jää haitallisia jäämiä, eikä putkistojärjestelmät vaurioidu. Nanokuplat voivat osaltaan edistää raudan hapettumista radikaalien avulla ja lisäämällä hapen saatavuutta liuoksessa. Kuplan negatiivinen pintavaraus myös houkuttelee positiivisesti varautunutta rautaonia pinnalleen, jossa ne ovat alttiimpia hapettumiselle. Nanokuplilla voisi olla merkittävä rooli lämmönsiirron ja energiatehokkuuden parantamisessa, mikäli niiden vaikutus kiehumispisteeseen ja veden lämpötilan nousunopeuteen osoittautuu riittävän tehokkaaksi.

3 NANOKUPLAT

Nanokuplat ovat ISO-standardin määrittelyn mukaan alle 1 µm kokoisia tyypillisesti nesteen sisällä vapaasti liikkuvia tai pinnalle kiinnittyneitä kaasukuplia. (ISO 20480-1:2017, 2017). Niiden olemassaolosta kiisteltiin pitkään, sillä niiden pieni koko tekee tutkimuksesta haastavaa. (Choi ym., 2021). Parin viimeisen vuosikymmenen aikana nanokuplatutkimuksia on tehty runsaasti ja nanokuplilla on todettu olevan erityisiä fyysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia. (Michailidi ym., 2020). Nanokuplien on todettu pysyvän liuoksessa liukenematta ja koalesoitumatta jopa useita kuukausia, eivätkä ne nouse nesteen pinnalle pienen kokonsa ansiosta. (Nirmalkar ym., 2018a; Cho ym., 2023; Azevedo ym., 2016; Michailidi ym., 2020) Nanokuplien suuri ominaispinta-ala tehostaa kaasun aineensiirtoa nesteeseen. Niiden negatiivinen pintavarauus puolestaan edistää ionien ja partikkelien adsorboitumista kuplan pinnalle. Kuplan romahtaessa sen välittömään läheisyyteen muodostuu hetkellisiä äärimmäisiä olosuhteita, joissa syntyy vapaita happiradikaaleja. Nämä ovat voimakkaita hapettimia, joilla on kyky hajottaa, hapettaa ja inaktivoida erilaisia kemiallisia ja biologisia epäpuhtauksia. (Wang T. ym., 2024; Wang ym., 2023) Nanokuplat jaotellaan pintananokupliksi (surface nanobubbles, SNB) ja bulkkinanokupliksi (bulk nanobubbles, BNB), joista ensimmäiset esiintyvät kiinnittyneinä johonkin pintaan ja jälkimmäiset liikkuvat nesteessä vapaasti Brownin liikkeen mukaisesti. (Alheshibri ym., 2021)

3.1 Nanokuplan synty ja ominaisuudet

Nanokuplien syntymekanismeihin ja stabiilisuuteen on liittynyt paljon epävarmuutta. Pieniä kaasukuplia esiintyy luonnossa virtaavissa ja kuohuvissa vesissä, mutta kuplien liukenemista ympäröivään veteen on pidetty ajallisesti hyvin lyhyenä. Epstein-Plesset-teorian ja Young-Laplace-yhtälön mukaan nanokokaisen kaasukuplan pitäisi liueta ympäröivään veteen mikrosekunneissa standardiolosuhteissa. (Duncan & Needham, 2004; Weijs ym., 2012) Kuplan stabiilisuuteen vaikuttaa erityisesti kaasun konsentraatio nesteessä ja kuplan pintajännityksen voimakkuus. Kun nesteen kaasupitoisuus on alhainen, kaasun liukoisuus on suurempaa, jolloin kaasukuplat liukenevat siihen nopeammin. Nesteen ja kaasukuplan paine-eron voimakkuutta kuplan rajapinnalla kuvaa Laplacen paine, kaava (1), jonka arvo on sitä suurempi, mitä pienempi

kupla on. Pienet kuplat siis pyrkivät liukenemaan ympäröivään nesteeseen nopeammin. (Duncan & Needham, 2004)

Kuplan sisäinen paine Young-Laplace-yhtälöllä ilmaistuna.

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R} \quad (1)$$

jossa ΔP on paine-ero, γ pintajännitys ja R kuplan säde

Pienentyvä kuplan säde lisää kuplan sisäistä painetta Laplace-yhtälön mukaisesti. Tämä kohonnut sisäinen paine kasvattaa kaasun osapainetta kuplan rajapinnalla, mikä Henryn lain mukaan, kaava (2), johtaa suurempaan kaasun liukoisuuteen nesteessä. Näin ollen pienet kuplat voivat tehostaa kaasun siirtymistä nesteeseen. (Agarwal ym., 2011)

Henryn laki.

$$C = \kappa_H \cdot P \quad (2)$$

jossa C on kaasun pitoisuus nesteessä, κ_H Henryn vakio ja P kaasun osapaine

3.2 Stabiilisuus

Nanokuplien on kuitenkin todettu pysyvän nesteessä pitkiä aikoja siihen liukenematta. Nanokuplien pitkäikäisyyden syytä ei täysin tunneta, mutta tutkijat ovat esittäneet useita mahdollisia teorioita stabiilisuuden syyksi. Kuplan rajapinta ja siihen liittyvät ilmiöt ovat keskeisiä useissa tutkimuksissa. Rajapinnan sähkövarausta on tutkittu runsaasti ja sen on todettu olevan negatiivinen, joka aiheuttaa elektrostaattisia hylkimisvoimia toisia kuplia vastaan. (Ushikubo ym., 2010a; Nirmalkar ym., 2018b) Tämä esittää kuplien koalesoitumista ja liukenemistä, eikä Ostwaldin kypsymistä pääse tapahtumaan. (Paknahad ym., 2021). Mikroakuplien käyttäytymistä on kuvattu Ostwaldin kypsymisellä, jossa kuplat joko yhtyvät suurempiin tai liukenevat kokonaan. (Inoue ym., 2022). Yhtenä selityksenä nanokuplien stabiilisuudelle on pidetty nanokuplan pientä kokoa ja siitä johtuvaa Brownin liikettä, jossa kupla ei liiku nesteen pintaa kohden nosteen vaikutuksesta, vaan se liikkuu passiivisella satunnaisliikkeellä nesteen sisällä. Tällöin se ei nouse pintaan ja puhkea. (Paknahad ym., 2021)

Pintaan kiinnittyneen nanokuplan stabiilisuudesta on olemassa yleisesti melko hyväksytty näkemys, jossa stabiilisuus liittyy kuplan ankkuroitumisvoimaan pintakontaktissa. Tämä estää kaasun liukenemisen, erityisesti, kun kaasun pitoisuus on lähellä kyllästymispistettä. (Zhang ym., 2013) Ilmiö estää myös viereisten pintananokuplien liukenemistä rajoittamalla kaasun diffuusiota kuplien välillä. (Dollet ym., 2016). Nanokuplan kontaktikulma pintaan kiinnittyneenä on normaalia paljon suurempi, jolloin kupla voi muodostaa matalan ja laajan pancake-nanokuplan, joka voi olla vain muutamia nanometrejä korkea ja muutamia mikrometrejä leveä. (Nirmalkar ym., 2018a) Pintaan kiinnittyneen nanokuplan rajapintaan voi myös kiinnittyä epäpuhtauksia, jotka muodostavat kalvon sen pinnalle ja rajoittavat diffuusiolla tapahtuvaa kaasunsiirtoa kuplasta. (Ducker, 2009) Nämä eivät kuitenkaan selitä sitä, miksi nesteessä vapaasti liikkuva kupla on stabiili.

On todettu, että kuplan pinnalle kerääntyneet hydroksidi-ionit (OH^-) tekevät kuplan pinnasta negatiivisesti varautuneen. (Nirmalkar ym., 2018b) Duhkin & Xu (2024) ehdottivat nanokuplien stabiilisuudelle teoriaksi rajapinnan kaksoiskerroksen sähköisiä voimia, joita he kutsuivat ”dielektrostaattisiksi voimiksi”. He ehdottivat, että nanokuplan pinnalla olevat OH^- -ionit muodostavat vesimolekyylien kanssa sähköisen kaksoiskerroksen. Nämä voimat kumoaisivat kuplan sisäisen Young-Laplacen yhtälön ulospäin suuntautuvan voiman ja antaisi nanokuplalle sen pitkän iän. Nirmalkar ym. (2018a) päätyivät samaan tulokseen kaksoiskerroksesta ja esittivät nanokuplien käyttäytyvän monin tavoin kuin kolloidit.

Yasui, ym. (2016) ehdottivat kuplan pintaan adsorboituneen hydrofobisen partikkelin luovan kuplan pinnalle kaasugradientin, jolloin kaasun virtaus kuplaan ja sieltä pois olisi dynaamisessa tasapainossa. Ohgaki ym. (2010) totesivat tutkimuksessaan kuplan rajapinnan vahvojen vetysidosten estävän kaasukuplien liukenemistä ympäröivään nesteeseen.

Weijis ym. (2012) totesivat, että nanokuplien suuri määrä kaasusta kyllästyneessä nesteessä tuo suojausvaikutuksen diffuusiota vastaan estäen kuplien liukenemistä. Zhang ym. (2008) ehdottivat kuplan tiheyden kasvavan merkittävästi sen pienentyessä, jolloin liukeneminen ei enää välttämättä noudata Henryn lakia nanoskaalan

kuplissa. Kaasu saattaa myös olla uudenaikaisessa faasissa kuplan sisällä tiheyden ollessa erittäin korkea.

Vehmas & Makkonen (2021) kehittivät teorian kuplien metastabiilisuudesta termodynamiikan periaatteiden kautta. He osoittivat Gibbzin energian avulla, että alle 180 nanometrin kokoisen ilmakuplan liukeneminen veteen ei ole termodynaamisesti spontaania, vaan se vaatii ulkoista aktivaatioenergiaa. Tällöin kupla voi pysyä nesteessä metastabiilissa tilassa.

Kuplien fyysistä kestoja ja ominaisuuksia on testattu eri olosuhteissa. Cho ym. (2023) tutkivat tuottamiensa ilmananokuplien konsentraatiota, kokoa ja kestoja eri olosuhteissa laboratoriossa. He muuttivat näytteiden säilytysaikoja ja -lämpötiloja ja testasivat näytteitä mekaanisin menetelmin sentrifugoimalla ja sekoittamalla ja totesivat nanokuplien olevan erittäin hyvin säilyviä näissä olosuhteissa. He totesivat pitkäkestoisessa säilyvyystutkimuksessa nanokuplien olevan lähes muuttumattomia koon ja määrän osalta 120 päivän ajan. Nirmalkar ym. (2018a) totesivat merkittävän osan ilmananokuplista säilyvän peräti kymmenen kuukautta heidän säilyvyystutkimuksensa, jonka jälkeen seuranta lopetettiin. He totesivat nanokuplien kestävän myös jopa jäätyksen ja uudelleen sulattamisen, kun sen pinnalla on tensidejä. Tensidit vaikuttavat kupliin eri tavoin. Kuplan rajapintaan adsorboituvat anioniset tensidit voimistavat pinnan negatiivista sähkövarausta ja parantavat kuplan stabiilisuutta, kun taas kationiset tensidit muuttavat varauksen positiiviseksi konsentraation kasvaessa. Ionittomat tensidit eivät muuta kuplan sähkövarausta, mutta ne muodostavat molekyylikerroksen kuplan pinnalle, joka estää kuplien yhdistymistä mekaanisesti. (Nirmalkar ym., 2018b)

Michailidi ym. (2020) esittivät, että etanolin lisääminen nanokuplia sisältävään veteen muuttaa kuplan rajapinnan vetysidoksia, mikä alentaa pintajännitystä ja parantaa kuplien stabiilisuutta. Samansuuntaisiin johtopäätöksiin päätyi myös Takahashi (2005), joka totesi, että alkoholin lisääminen näytteeseen muuttaa vetysidosten rakennetta kuplan rajapinnalla, mikä vaikuttaa rajapinnan sähkövaraukseen.

Meegoda, ym. (2018) tutkivat eri kaasuista tuotettujen nanokuplien ominaisuuksia ja totesivat kaasun laadun vaikuttavan sen kokoon ja rajapinnan sähkövaraukseen, kun kuplat ovat tuotettu samanlaisissa olosuhteissa. Lämpötila, pH ja ionivahvuus

vaikuttivat myös kuplien rajapinnan sähkövaraukseen, eli zeta-potentiaaliin. Tutkimuksessa havaittiin, että kaasun zeta-potentiaali oli verrannollinen kaasun diffuusionopeuteen, liukoisuuteen sekä sen kykyyn muodostaa OH^- -ioneita kuplan rajapinnalla. Eri kaasujen toisistaan poikkeavat zeta-potentiaalit on arvioitu vaikuttavan näiden kaasujen muodostamien kuplien stabiilisuuteen. (Ushikubo ym., 2010b).

Nanokuplien tarkasteluun on olemassa useita eri tekniikoita. Dynaaminen valosironta (Dynamic Light Scattering, DLS) on ollut yleisesti käytetty menetelmä nanopartikkelitutkimuksessa jo pitkään. Se perustuu partikkelien valon sironnan analysointiin, jolla pystytään määrittämään partikkelien kokojakauma. Menetelmä hyödyntää partikkelien Brownin liikettä niiden koon määrittämisessä. Nanopartikkelien seuranta-analyysi (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA) on vastaava uudempi menetelmä, jolla pystytään mittaamaan koon lisäksi myös partikkelien pitoisuus. Menetelmä analysoi yksittäisen partikkelin Brownin liikettä ja laskee sen hydrodynaamisen halkaisijan Stokes–Einstein-yhtälön avulla. Menetelmät soveltuvat myös nanokokoisten kaasukuplien tutkimukseen. Näistä NTA-menetelmä on osoittautunut luotettavammaksi, sillä DLS-menetelmä voi yliarvioida kuplien koon tuottamalla jakaumia, joissa suuret kuplat korostuvat liikaa. (Nirmalkar ym., 2018a) Nämä menetelmät eivät kuitenkaan erota ovatko mitatut partikkelit nanokoon kaasukuplia, nestepisaroita tai kiinteitä partikkeleita. On siis tarvittu muita analyysitekniikoita, kuten jäädytys–sulatuskokeita tai pitkäaikaisseuranta, jotta mittaustulosten perusteella voidaan luotettavammin olettaa kyseessä olevan nanokuplia. (Nirmalkar ym., 2018b)

Ydinmagneettinen resonanssimenetelmä (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) pystyy havaitsemaan heikkoja molekyylien välisiä vuorovaikutuksia, liittyen kuplien vetysidoksiin, molekyylien liikkuvuuteen ja steerisiin, eli avaruudellisiin vaikutuksiin. Tällä menetelmällä pystytään tutkimaan esimerkiksi kuplan rajapintaa ja sen paksuutta. (Ushikubo ym., 2010a; Zhang ym., 2022)

Muita mittausten menetelmiä ovat esimerkiksi Resonance Mass Measurement (MMR), joka pystyy erottamaan kaasukuplat kiinteistä hiukkasista ja määrittämään kuplan tiheyden. Jäädytys- eli cryo-tekniikka auttaa havaitsemaan nanokuplien muodostamat kolot pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (SEM, TEM). (Sun ym., 2021) Tapping Mode Atomic Force Microscopy (TM-AFM) mahdollistaa nanokuplien muodon, koon ja

korkeuden tarkan mittaamisen kiinteän pinnan päältä. (Choi ym., 2021) Nämä mainitut tekniikat ovat alun perin kehitetty nanopartikkelien tutkimukseen ja soveltuvat myös nanokuplien analysointiin, mutta eivät täysin aukottomasti. (Sun ym., 2021)

Nanokuplien stabiilisuutta on pyritty selittämään useissa tutkimuksissa erilaisissa koekellisissä olosuhteissa, mutta yhtenäistä teoriaa ei ole vielä muodostunut. Sun ym. (2021) julkaisivat kirjallisuuskatsauksen tutkimuksista, joissa käsiteltiin nanokuplien muodostumista ja stabiilisuutta. Artikkelissa tarkastellaan erityisesti sitä, miten nanokuplien muodostumisteoria ja stabiilisuus on ristiriidassa Epstein-Plessetin teorian kanssa ja miten osa tutkijoista pitää mahdollisena, että jotkin havaitut partikkelit eivät ole nanokuplia vaan liukenemattomia pisaroita tai nanohiukkasia. Artikkelissa käsitellään myös sitä, miten nykyiset analyysimenetelmät eivät vielä kykene luotettavasti erottamaan nanokuplia nanokoon epäpuhtauksista, jos niiden tiheys on lähellä nesteen tiheyttä. Tämän vuoksi tarvitaan lisää tutkimusta ja rinnakkaisia analyysimenetelmiä, jotka luotettavammin voisivat erottaa nanokuplat partikkeleista.

3.3 Zeta-potentiaali

Zeta-potentiaalilla (ζ -potentiaali) tarkoitetaan kuplan sähköistä potentiaaliarvoa, eli pintavarausta, joka muodostuu kuplan niin sanotulle slipping plane-alueelle, nesteen ja kuplan rajapinnalle. Kuplan rajapinnan on todettu olevan negatiivisesti varautunut ja sen on ehdotettu olevan syy nanokuplien stabiilisuudelle. (Foudas ym., 2023; Meegoda ym., 2018) On tutkittu, että vahvassa negatiivisessa zeta-potentiaalissa kuplat hylkivät toisiaan, jolloin niiden koalesoituminen estyy ja stabiilisuus säilyy. (Ushikubo ym., 2010a). Tan ym. (2020) havainnoivat zeta-potentiaalın poikkeavan jyrkästi tasomaisen rajapinnan ja pallomaisen rajapinnan välillä, kun kuplan koko on alle 10 μm . Nanokuplien pieni koko ja voimakas kaarevuus voi osaltaan selittää niiden poikkeuksellisen stabiilisuuden. Kuplan koon on todettu pienenevän zeta-potentiaalın negatiivisuuden vahvistuessa. Kuplan koolla on merkitystä kuplan stabiilisuudelle, pieni koko estää nousemasta niitä pinnalle ja vahva negatiivinen pintavaraus estää kuplien yhdistymistä. (Meegoda ym., 2018; Alheshibri ym., 2021)

Negatiivinen pintavaraus johtuu siitä, että hydroksidi-ionit (OH^-) kerääntyvät kuplan rajapinnalle, jolloin rajapinnan varaus muuttuu negatiiviseksi suhteessa ympäröivään nesteeseen. (Acniti n.d.). Zeta-potentiaalin on toisissa tutkimuksissa todettu pysyvän vakiona kuukausia (Nirmalkar ym., 2018a), mutta on myös todettu zeta-potentiaalin heikkenemistä ja kuplan koon kasvua ajan myötä. (Ushikubo ym., 2010a; Meegoda ym., 2018) Myös kuplien prosessointiajan kasvaessa zeta-potentiaalin on todettu sekä vahvistuvan (Michailidi ym., 2020) että heikentyvän (Ushikubo ym., 2010b). Ushikubo ym. (2010b) ehdottivat heikkenemisen syyksi kuplien yhdistymistä suuremmiksi prosessointiajan kasvaessa.

Kaasun tyyppi vaikuttaa kuplan zeta-potentiaaliin merkittävästi ja kaasut, jotka voivat edistää OH^- -ionien muodostumista kuplan rajapintaan tuottavat negatiivisempia zeta-potentiaaleja. (Meegoda ym., 2018) Tällä on vaikutusta eri kaasujen stabiilisuuteen, jolloin vahvempi negatiivinen pintavaraus estää kuplien koalesoitumista. (Alheshibri ym., 2021). Ushikubo ym. (2010a) totesivat happinanokuplien zeta-potentiaalin vahvuuden olevan yhteydessä liunneen hapen (DO) pitoisuuden kanssa, jolloin korkeampi happipitoisuus tuotti vahvempia zeta-potentiaaliarvoja, parantaen kuplan säilyvyyttä. Spanos:n ym. (2002) mukaan kolloidisten dispersioiden sähköisen stabiilisuuden vähimmäisrajana pidetään arvoa -30 mV. Ushikubo ym. (2010a) totesivat tutkimuksessaan hapestä muodostuneiden nanokuplien zeta-potentiaalin olevan ($-34\dots-45$) mV, kun taas ilmasta muodostettujen nanokuplien zeta-potentiaali oli pienempi, ($-17\dots-20$) mV. Tämän perusteella happinanokuplien vahvempi zeta-potentiaali saattaa olla yhteydessä niiden suurempaan stabiilisuuteen ja pidempään säilyvyyteen vedessä. He havaitsivat happinanokuplien olevan stabiileja 3-15 päivän ajan, kun ilmananokuplat säilyivät vain yhden tunnin. Ilmananokuplien zeta-potentiaali oli heikompi, jolloin niiden sähköinen hylkimisvoima ei mahdollisesti ollut riittävä estämään kuplien yhdistymistä. Lisäksi havaittiin, että zeta-potentiaalin suuruus on yhteydessä liunneen hapen pitoisuuden kanssa; mitä korkeampi happipitoisuus, sitä suurempi zeta-potentiaalin absoluuttinen arvo. Tämä yhteys viittaa siihen, että hapen ylimäärä vedessä voi edesauttaa kuplien varautumista ja näin parantaa niiden säilyvyyttä ajan kuluessa.

Meegoda ym. (2018) totesivat tutkimuksessaan, että kuplien koko ja zeta-potentiaali muuttuvat nesteen pH:n muuttuessa. He totesivat happinanokuplan negatiivisen zeta-potentiaalin vahvistuvan merkittävästi pH-arvon noustessa arvosta pH 4 arvoon pH 10. Emäksisessä ympäristössä on runsaasti OH-ioneja, jotka kerääntyvät kuplan rajapinnalle ja vahvistavat negatiivista pintavarausta. Happamassa H⁺-ionit ovat määrääviä, jolloin niitä kertyy kuplan rajapintaan enemmän. Useassa tutkimuksessa on havaittu, että zeta-potentiaaliarvo on kääntynyt positiiviseksi tai ollut lähellä nollaa, kun pH:n arvo on ollut alle 4. (Meegoda ym., 2018; Takahashi, 2005; Nirmalkar ym., 2018a) Kuplasta tulee tällöin epävakaampi ja se voi yhdistyä muihin kupliin tai hävitä liuoksesta. (Meegoda ym., 2018).

Vahvistuneella zeta-potentiaalilla on myös todettu olevan tärkeä rooli hydroksyyliiradiikaalien ($\cdot\text{OH}$) muodostumisessa kuplan romahtaessa. Kuplan pienentyessä pinnan varautuneet ionit kerääntyvät yhä tiiviimmin kuplan pinnalle, jotka juuri ennen kuplan romahdusta vahvistavat zeta-potentiaalia merkittävästi. (Takahashi ym., 2007). Kuplan romahtaessa ne mahdollistavat vapaiden happiradiikaalien synnyn. (Wang, T. ym., 2024).

Rajapinnan zeta-potentiaalin negatiivinen arvo heikkenee lisättäessä liuokseen eriarvoisia suoloja, ja muutos on sitä voimakkaampi, mitä suurempi suolan kationin varaus on. Kuplan rajapinnan kaksoiskerros heikkenee, ja kuplan koko kasvaa, jolloin se voi yhtyä toisiin kupliin häviten liuoksesta. Kun liuokseen lisätään ionittomia tensidejä, zeta-potentiaali pysyy muuttumattomana, kun taas anioninen tensidi kuplan pinnalla vahvistaa sen pintavarauksen negatiivisuutta. Kationinen tensidi aiheuttaa zeta-potentiaalin muuttumisen positiiviseksi tensidin konsentraation kasvaessa, jolloin kupla voi olla stabiili myös positiivisella pintavarauksella. (Nirmalkar ym., 2018b)

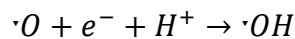
Zeta-potentiaali voidaan mitata Laser Doppler mikroeletroforeesi-tekniikalla, jossa kupladispersioon kohdistetaan sähkökenttä. Kuplat liikkuvat nesteessä sähkökenttää kohti nopeudella, joka riippuu zeta-potentiaalista. Tämä nopeus voidaan mitata laserinterferometrillä (Phase Analysis Light Scattering) ja saadut liikkuvuusarvot muunnetaan zeta-potentiaaleiksi millivolteina käyttämällä Smoluchowskin yhtälöä. (Meegoda ym., 2018; Azevedo ym., 2016) Duhkin & Xu (2024) totesivat kuitenkin Smoluchowskin

yhtälön olevan epätarkka hyvin pienten nanokuplien zeta-potentiaalin laskemiseen alhaisissa ionikonsentraatioissa.

3.4 Reaktiiviset happilajit (ROS)

Kuplat voivat romahtaessaan muodostaa reaktiivisia happilajeja, (reactive oxygen species, ROS), joista erityisesti hydroksyyliiradikaaleja ($\cdot\text{OH}$). Hydroksyyliiradikaalit ovat erittäin reaktiivisia hapen johdannaisia, jotka sisältävät parittoman elektronin. Niillä on voimakas hapettava ominaisuus. (Gligorovski ym., 2015) Hydroksyyliiradikaali on tärkein luonnollinen hapetin niin ilmakehässä, kuin pintavesissä, ja sitä kutsutaan usein ilmakehän pesuaineeksi, sillä se reagoi monien saasteiden kanssa ja käynnistää niiden hajoamisen. (Martínez ym., 2020; Gligorovski ym., 2015) Nanokuplateknologian yksi keskeinen vaikutusmekanismi perustuu näiden vapaiden radikaalien muodostumiseen kuplien romahtaessa. (Wang T. ym., 2024).

Hydroksyyliiradikaalin muodostuminen vedessä kuplan romahtaessa. (Wang, T. ym., 2024)



Hydroksyyliiradikaalin muodostumiselle kuplan romahtaessa on tällä hetkellä esitetty kaksi teoriaa; ionien kertymisteoriat kuplan pinnalla sen romahtaessa ja adiabaattinen puristuminen. Jälkimmäisessä dynaaminen ärsyke romahduttaa kuplan, jolloin vesimolekyylit hajoaa korkean lämpötilan ja paineen johdosta ja muodostaa $\cdot\text{OH}$:n, esimerkkinä akustinen kavitaatio. Tämä on esitetty kaavassa (4), tapa 2. Vapaiden radikaalien muodostuminen ilman dynaamista ärsykettä on kuvattu kaavassa (3), tapa 1, jossa kutistuvan kuplan rajapinnalle kertyy yhä enemmän ioneja ja rajapinnan zeta-potentiaali kasvaa korkeaksi. Kuplan liuetessa tapahtuu sen loppuvaiheessa nopea romahtaminen, jolloin pinnalle kerääntynyt sähköinen ja kemiallinen energia mahdollistaa vapaiden radikaalien muodostumisen. (Takahashi ym., 2007; Jin ym., 2020; Wang, T. ym., 2024) Kuplan rajapinnalla olevat erityyppiset ionit ovat mahdollisesti syynä eri radikaalityyppien muodostumiseen. (Wang, T. ym., 2024). Wang ym. (2018)

havainnoivat hydroksyyli-radikaalien muodostuvan pääasiassa happimolekyylin tuottaman happiradikaalin ja protonin reaktiosta, eivät niinkään veden hajoamisen seurauksesta. He totesivat, että eri kaasut tuottivat eri määriä hydroksyyli-radikaaleja. Mikäli vapaat radikaalit olisivat peräisin vesimolekyyleistä, olisi radikaalien pitoisuus pysynyt samankaltaisena kaikilla eri kaasuilla.

Hydroksyyli-radikaalien muodostumiseen vaikuttaa erityisesti dynaaminen ärsyke, liuoksen pH, hapen saatavuus, kuplan koko ja ionikonsentraatio. Matalassa pH:ssa on runsaasti H^+ -ioneita, jotka edistävät $\cdot OH$:n syntyä, ja jos hapen saatavuus on korkea, tarjoaa se enemmän lähtöaineita reaktioon. Korkeassa pH:ssa kuplien negatiivinen zeta-potentiaali vahvistuu OH -ionien kerääntyessä rajapintaan ja kuplakoko pienenee, mikä parantaa vapaiden radikaalien tuotantoa rajapinnan kasvaneen adsorption kautta. Neutraalissa pH:ssa $\cdot OH$:n muodostuminen on selvästi vähäisempää. (Wang ym., 2018; Wang, T. ym., 2024) Vapaiden radikaalien muodostuminen edistyy jo erittäin pienillä ionikonsentraatioilla. Vaikka hyvin pieni ionikonsentraatio ei vahvista nanokuplien zeta-potentiaalia, jolloin ne muodostaisivat enemmän radikaaleja, havaitaan silti lisääntyntä radikaalien muodostumista. Radikaalien lisääntymisen syyksi tällöin on arveltu kuplan pinnalle muodostuvaa ionikertymäkerrosta, joka hidastaa hapen liukenemistä kuplasta ympäröivään liuokseen ja siten edistää kuplan säilymistä, jolloin kuplien määrä nesteessä kasvaa kuplien koalesoitumisen estyessä. (Uchida ym., 2016).

Kuplan romahtaessa äkillisesti kasaan dynaamisen ärsykkeen, kuten kavitaation vaikutuksesta, muodostuu sen sisällä merkittävä paineen ja lämpötilan nousu, joka synnyttää kuplan lävistäviä mikrosuihkuja (microjet) ja leikkausvoimia ympäröivään nesteeseen. (Wang, T. ym., 2024). Näistä syntyy paikallisia äärimmäisen korkeita hetkelisiä lämpötiloja ja paineita, jopa 15000 K ja 5000 atm. (Wang B. ym. 2021) Ilman ulkoista ärsykettä kuplan liuetessa veteen, sen kutistumisen loppuvaiheessa tapahtuu nopea romahtaminen, jolloin kuplan sisäinen paine ja lämpötila nousevat merkittävästi. Eräissä tutkimuksissa nämä arvot olivat 3000 K ja 5 GPa. (Yasui ym., 2018) Erilaisissa tutkimuksissa mallinnetut lämpötila- ja painearvot vaihtelevat melko paljon, eikä arvoista ole muodostunut selkeää tieteellistä yksimielisyyttä. (Wang, T. ym., 2024) Stabiilin nanokuplan liukenemisen ja romahtamisen syyksi ilman dynaamista

ärsykettä on ehdotettu kuplan törmäystä astian reunoihin brownin liikkeen aiheuttamana (Nirmalkar ym., 2018a), tai kuplan saavuttaessa näytteen reunassa ilmakehän, jolloin myös läheiset kuplat voivat romahtaa. (Jin ym., 2020)

Vapaita radikaaleja on todettu syntyvän, kun kuplan romahduttaa ulkoinen ärsyke, kuten kavitaatio. Tiedemaailmassa on kuitenkin erimielisyyttä, muodostuuko radikaaleja seisovassa nanokuplavedessä myös ilman tätä ärsykettä. (Yasui ym., 2018) Takahashi ym., (2007) totesi tutkimuksessaan mikrokuplien muodostavan $\cdot\text{OH}$:a ilman ärsykettä. Kuplat romahtivat pehmeästi vedessä muutaman minuutin ajan. Wang ym. (2018) totesivat tutkimuksessaan $\cdot\text{OH}$:a muodostuvan usean minuutin ajan seisovassa vedessä kaasun kompressiogeneraattorin sulkemisen jälkeen. Jin ym. (2020) havainnoivat kuplien romahtavan näytteen reunoilla ja $\cdot\text{OH}$:a muodostuvan objektilla olevassa nanokuplanäytteessä, jota kuvattiin fluoresenssimikroskoopilla.

Yasui ym. (2019) totesivat tutkimuksessaan, että ilman ulkoista ärsykettä lämpötila kuplien romahtaessa ei riittäisi vesimolekyylin hajoamiseen, vaan radikaalit muodostuisivat kuplan sisällä olevasta kaasusta ja vain muutamia kymmeniä $\cdot\text{OH}$ -radikaaleja muodostuisi millilitrassa vettä. Tämä selittäisi, miksi hyvin pieniä määriä $\cdot\text{OH}$ -radikaaleja on pystytty mittaamaan tutkimuksissa. (Michailidi ym., 2020). Yasui ym. (2019) olettivat myös, että tutkimuksissa, joissa $\cdot\text{OH}$ -radikaaleja on löytynyt merkittävässä määrin, on mittauksen epäspesifisyyden takia mahdollisesti mitattu $\cdot\text{OH}$:n sijaan kavitaatiossa muodostunutta vetyperoksidin (H_2O_2) pitoisuutta. Chae ym. (2023) totesivat tutkimuksessaan, että $\cdot\text{OH}$:a ei syntynyt lainkaan, tai niin vähäisesti, ettei niitä pystytty mittaamaan. He olettivat fluoresenssispektrofotometrillä mitaamansa positiiviset tulokset johtuvan kuplan pinnan alhaisesta pH-arvosta, ja siitä syntyneestä hydrolyysi-reaktiosta, eikä niinkään $\cdot\text{OH}$:n muodostumisesta. Tuoreessa tutkimuksessa vuodelta 2025 havaittiin, etteivät ilmananokuplat ilman ärsykettä tuottaneet $\cdot\text{OH}$:a näytteessä, mutta ne voivat voimakkaasti tehostaa niiden syntymistä, kun ilmananokuplia sisältävää liuosta käsitellään ultraäänellä. (Ninomiya & Hosoi, 2025).

Hydroksyyli-radikaalien tutkiminen edellyttää tarkkoja ja reaaliaikaisia analyysimenetelmiä. Hydroksyyli-radikaalien reaktiot orgaanisten yhdisteiden kanssa ovat usein monimutkaisia kemiallisia prosesseja, jotka etenevät useiden osittain hapettuneiden

radikaaliväliuotteiden kautta. Näiden väliuotteiden tunnistamiseen tarvitaan tutkusta reaaliajassa. Käytettävien menetelmien on pystyttävä havaitsemaan nopeasti radikaalien pitoisuuksien ja elinajan vaihtelut. (Gligorovski ym., 2015)

Elektronispinresonanssispektroskopia (Electron spin resonance spectroscopy, ESR) on hydroksyyli-radikaalin mittaamiseen soveltuva menetelmä, jossa kemiallinen yhdiste muodostaa havaittavan stabiilin kompleksin lyhytikäisen radikaalin kanssa. Fluoresenssispektrofotometria on mittausmenetelmä, jolla mitataan näytteen fluoresenssia molekyylin avulla, joka sitoutuessaan radikaaliin alkaa fluoresoida. (Yasui ym., 2018)

3.5 Brownin liike ja ominaispinta-ala

Makrokokoisten kuplien noste on niin suuri, että ne nousevat nesteeseen pinnalle ja puhkeavat. Nanokuplat ovat niin pieniä, ettei niiden noste ole riittävä voittamaan nesteeseen vastusvoimia, vaan niiden liikettä nesteessä on kuvattu partikkelien liikettä kuvaavalla Brownin liikkeellä. (Meegoda ym., 2018) Partikkelin ollessa hyvin pieni, alle 1 μm , nesteeseen molekyylit voivat törmäillä siihen satunnaisesti. Tämä nettovoima voi olla hetkellisesti niin suuri, että se saa partikkelin vaihtamaan kulkusuuntaansa ja tätä satunnaista liikettä kutsutaan Brownin liikkeeksi. (Richardson & Harker, 2008 s. 163)

Jin ym. (2020) tutkivat eri kaasuista valmistettujen nanokuplien ominaisuuksia reaaliajassa pimeäkenttämikroskoopilla (Dark-field microscopy), jossa valon sironnan avulla saadaan hyvin pienten hiukkasten rakenteet näkyville. He totesivat liikeanalyysissä kuplien liikkuvan passiivisella ja satunnaisella Brownin liikkeellä noin 0,8 $\mu\text{m/s}$. Kuplan liikkeeseen ei vaikuttanut se, mistä kaasusta nanokupla oli muodostunut, vaan kaikki liikkuvat yhteneväisesti.

Nanokuplilla on niiden pienen kokonsa ansiosta suuri ominaispinta-ala suhteessa tilavuuteen. Tämä mahdollistaa niiden suuren aineensiirtokyvyn ja niiden on todettu edistävän liuenneen hapen pitoisuuden nousua vedessä. Ominaispinta-alan lisäksi nanokuplan satunnaisliike nesteessä edistää aineensiirtoa kuplasta veteen. Kuplan kyky sitoa epäpuhtauksia sen pinnalle on suuri, johtuen suuresta ominaispinta-alasta,

jolloin epäpuhtaudet joko hapettuvat tai nousevat pinnalle suurempien kuplien yhtyessä niihin. (Wang, T. ym., 2024)

3.6 Tuottomenetelmät

Nanokuplia voidaan tuottaa usealla eri menetelmällä, joita on kehitetty erilaisten tarpeiden mukaan. Joillakin menetelmillä tuotantomäärät ovat helposti skaalattavissa, kun taas toiset vaativat huomattavan paljon energiaa toimiakseen. Osassa tekniikoita kuplien kokoa ja konsentraatiota pystytään säätelemään ja joissakin tekniikoissa pystytään tuottamaan vain tiettyjä kaasuja. (Wang & Wang, 2023) Kuplien koon hallittavuus ja konsentraatio ovat keskeisiä tekijöitä, jotka rajoittavat kuplateknologian käytettävyyttä eri sovelluksissa. (Wang, T. ym., 2024). Seuraavissa kappaleissa esitellään useita erilaisia kuplien tuotantomenetelmiä. Tässä työssä keskitytään hydrodynaamisella kavitaatiolla tuotettuihin kupliin, joten sitä on käsitelty laajemmin omassa osuudessaan.

3.6.1 Kavitaatio

Kavitaatio-ilmiö syntyy, kun nesteen paine äkillisesti laskee alle nesteen höyrynpaineen. Tämä saa aikaan faasinmuutoksen, jossa nesteeseen muodostuu pieniä kaasukuplia nukleaatiopisteiden kohdalle. Kuplat syntyvät matalan paineen alueella ja siirtyessään korkeampaan paineeseen ne voivat romahtaa luoden mikrosuihkuja ja erittäin korkeita lämpötiloja ja paineiskuja. Ilmiö on ensin huomattu laivojen potkureissa, mutta myöhemmin todettu kavitaation olevan tärkeä ilmiö monissa tekniikan sovelluksissa. (Ranade ym., 2020, s. 6)

PVT-käyrällä (paine-tilavuus-lämpötila) kuvataan aineen termodynaamista käyttäytymistä. Kun tietyssä lämpötilassa (T) olevan nesteen painetta (p) muutetaan sen kylläisen höyrynpaineen (p_v) alapuolelle, saadaan hetkellinen paine-ero ($p_v - p = \Delta p$). Nesteen vetolujuus (Δp_c) kuvaa suurinta mahdollista painetta, jonka neste kestää repeämättä. Kun hetkellinen paine ylittää nesteen vetolujuuden ($\Delta p_c - \Delta p$), nesteeseen muodostuu molekyylien lämpöliikkeen seurauksena lyhytikäisiä onteloita tai tyhjiä tiloja. Nämä toimivat nukleaation lähtöpisteinä, joiden seurauksena syntyy kuplia.

Homogeeninen nukleaatio tapahtuu puhtaassa nesteessä muodostaen vain höyryä sisältäviä kuplia, mutta todellisuudessa nukleaatio on lähes aina heterogeenista, jolloin nesteen sisältämä kaasu, materiaalien pinnanmuodot ja nesteessä olevat epäpuhtaudet edesauttavat nukleaation syntymistä alentaen nesteen vetolujuutta ja nukleaation muodostumiskynnystä. Tällöin kupla sisältää myös esimerkiksi kaasuja. (Brennen, 1995, 1.5 Cavitation And Boiling)

Kavitaatio voidaan tuottaa kahdella tavalla, joko nesteeseen kohdistetulla paineen vaihtelulla, tai nesteeseen kohdennetulla paikallisella energialla. (Lauterborn & Ohl, 1997). Useita näihin perustuvia menetelmiä on olemassa, joista seuraavaksi mainitaan tärkeimpiä.

Paineenvaihteluun perustuvia menetelmiä ovat akustinen kavitaatio ja hydrodynaaminen kavitaatio, joista jälkimmäistä käsitellään omana osionaan myöhemmin. Akustisessa kavitaatiossa neste altistetaan riittävän voimakkaalle ultraäänelle, yli 20 kHz, jolloin nesteessä jo olemassa olevat kaasuytimet alkavat värähdellä ääniaallon tuottaman paine-eron vaikutuksesta. Kupla alkaa kasvaa ja saavuttaessaan kriittisen resonanssikoon, se romahtaa voimakkaasti. (Manickam & Ashokkumar, 2014) Kavitaatiokuplat voivat romahtaa niin voimakkaasti, että se tuottaa valoa. Jos aiheuttajana on ääniaallot, ilmiötä kutsutaan sonoluminesenssiksi. (Lauterborn & Ohl, 1997) Ultraäänellä pystytään tuottamaan tasalaatuisia kuplia, mutta menetelmän skaalattavuus on haasteellinen. (Wang, T. ym., 2024)

Menetelmillä, joissa energiaa kohdistetaan nesteeseen, tarkoitetaan optista tai sähköpurkauskavitaatiota, joissa nesteeseen tuodaan ulkopuolista energiaa indusoimaan plasman muodostumista tai paikallista ylikuumenemista. Pistemäinen faasinmuutos tai paine-ero saa aikaan nukleaation ja kuplia muodostuu. Näillä menetelmällä on mahdollista saada aikaan myös homogeenistä nukleaatiota, jolloin kupla sisältää vain nesteen höyryä. Tekniikoita käytetään enimmäkseen kuplien tutkimiseen. Optinen kavitaatio on laserindusoitu menetelmä, jossa voimakas laservalo kohdistetaan nesteeseen plasman tuottamiseksi. Absorboituva energia aiheuttaa äkillisen lämpötilan nousun ja faasimuutoksen. Sähköpurkauskavitaatiossa kondensaattorin purkaus nesteessä kahden elektrodin välillä saa aikaa sähköjännitteen, joka aiheuttaa nesteen kuumenemisen ja paikallisen höyrystymisen. (Podbevšek ym., 2021).

3.6.2 Hydrodynaaminen kavitaatio

Hydrodynaaminen kavitaatio soveltuu hyvin teollisiin prosesseihin, sillä se on energia- tehokas ja helposti skaalattavissa oleva tekniikka. Ilmiö tuottaa leikkausvoimia, suih- kuvirtauksia ja paineiskuja, joita voidaan käyttää partikkelien ja yhdisteiden hajottami- seen ja tehokkaaseen kaasun aineensiirtoon nesteessä. Nopeat faasimuutokset so- veltuvat termistä muutosta vaativiin tapahtumiin ja hapettavat radikaalit desinfiointiin ja yhdisteiden hajottamiseen. Näitä fysikaalis-kemiallisia vaikutuksia voidaan hyödyn- tää monipuolisesti eri sovelluksissa. (Ranade ym., 2020, s. 7,12) Virtausnopeus ja paine vaikuttavat kuplien tuottoon, mutta kuplien kokoa on menetelmällä haastava hal- lita. (Wang, T. ym., 2024).

Hydrodynaamisessa kavitaatiossa neste pakotetaan virtaamaan paikallisen muutos- kohdan läpi, jolloin virtaukseen syntyy turbulenssia ja matalan paineen alueita virtauk- sen nopeuden kasvaessa hetkellisesti. Supistuskohdassa nesteen paine laskee voi- makkaasti alle sen höyrynpaineen, mikä käynnistää nukleaation, eli kuplien muodos- tumisen. Syntyneet kuplat siirtyvät muutoskohdan jälkeen turbulentin virtauksen mu- kana takaisin korkeampaan paineeseen, jolloin kupla romahtaa voimakkaasti. Turbu- lentin virtauksen johdosta kavitaatiota voi tapahtua myös ilman riittävää paineen las- kua, sillä virtaukseen syntyy kohtia, joissa höyrynpaine laskee riittävän alas kuplien syntymiseksi. (Ranade ym., 2020, s. 3, 6-8)

Hydrodynaamista kavitaatiota voidaan kuvata Bernoullin perusyhtälöstä sovelletun hydrodynaamisen kavitaation yhtälöllä, kaava (5). Ideaalisessa virtauksessa Ber- noullin periaatteen mukaan virtausnopeuden kasvaessa nesteen paine laskee. Kavi- taatio syntyy, kun paine laskee alle nesteen höyrynpaineen. (Michailidi ym., 2020)

$$P + \frac{1}{2}\rho U^2 = k(\text{vakio}) \rightarrow U^2 + \frac{2P}{\rho} = \frac{2k}{\rho} \quad (5)$$

jossa P on paine, U on veden virtausnopeus tietyssä pisteessä ja ρ on nesteen tiheys.

Jotta kavitaatio voi tapahtua, täytyy ideaalisessa virtauksessa tapahtua suunnanmuu- tos ja supistuminen. Paine muuttuu negatiiviseksi, kun nesteen virtausnopeus alittaa arvon $\sqrt{\frac{2k}{\rho}}$ ja tämä on kavitaation käynnistymisen kynnyksisarvo. (Favvas ym., 2021)

Tyypillisesti virtausmuutos tehdään venturi-tyyppisellä kapenevalla suuttimella, orifice-tyyppisillä rajoittimilla tai vortex-tyyppisellä kierrevirtauksella. Menetelmät ovat passiivisia, eivätkä vaadi virtaavan nesteen lisäksi ulkoista energiaa. Näiden välineiden geometrialla on suuri merkitys kavitaation ominaisuuksiin. Kierrevirtauksessa virtausta ei tarvitse rajoittaa hyvin pienikokoisella muutoskohdalla, joten se ei tukkeudu nesteen epäpuhtauksista yhtä helposti kuin venturi- tai orifice-rajoittimet. (Ranade ym., 2020, s. 7-9, 44)

Venturi-tyyppisiä virtauksen rajoittimia käytetään laajalti sekä teollisuudessa että tutkimuksessa. Useissa tutkimuksissa on arvioitu erilaisten venturirakenteiden suorituskykyä. Ne ovat energiataloudellisia, rakenteeltaan yksinkertaisia ja kestäviä, tuottavat kuplia tehokkaasti ja ovat erittäin luotettavia käytössä. (Goo ym., 2023)

3.6.3 Muut menetelmät

Nanokokoisten kuplien on todettu syntyvän liuottimien vaihdossa, esimerkiksi hapella kyllästyneessä vesi-etanoli-seoksessa. Koska etanoliin liukenee enemmän happea kuin veteen, seoksen yhdistämisen yhteydessä ylimääräinen happi vapautuu liuoksesta ja muodostaa kuplia. On havaittu myös, ettei nanokuplia synny puhtaissa orgaanisissa liuottimissa. (Jadhav & Barigou, 2020; Nirmalkar ym., 2019) Menetelmä on helppo toteuttaa ja edullinen, mutta kuplan kokoon on vaikea vaikuttaa. (Wang & Wang, 2023).

Kalvomenetelmässä kaasua syötetään paineella nanohuokosia sisältävän putkimaisen keraamisen suuttimen läpi nesteeseen nanokuplien muodostamiseksi. Huokosten koko määrää kuplien koon, mutta myös syötetyn kaasun paine vaikuttaa kuplien kokoon, zeta-potentiaaliin, pH-arvoon ja liuenteen hapen pitoisuuteen. (Ahmed ym., 2018) Menetelmällä pystytään säätämään kuplien kokoa ja konsentraatiota, mutta huokosten tukkeutuminen on menetelmän haittapuolina. (Wang & Wang, 2023).

Nanokuplia voidaan tuottaa myös elektrolyysillä, jolloin elektrodeilla syntyy sekä happi- että vetykuplia. Nanokokoisia kuplia muodostuu nanorakenteisella elektrodilla ja niiden kokoon ja konsentraatioon voidaan vaikuttaa korkeammilla jännitteillä ja

prosessin kestolla. (Wang & Wang, 2023) Elektrolyysimenetelmä nanokuplien tuottamiseksi ei ole osoittautunut kovin tehokkaaksi, mutta on vaihtoehtoinen tapa nanokuplien tuottamiseen laboratoriomittakaavassa. (Ulatowski ym. 2021).

Kaasun liukoisuus kasvaa paineen noustessa isotermisissä olosuhteissa Henryn lain mukaan. Nanokuplia voidaan tuottaa nesteen paineenvaihtelulla, jolloin nesteeseen liuotetaan korkeassa paineessa kaasua, joka vapautuu painetta laskiessa muodostaen ylikyllästyneessä nesteessä kuplia. (Sun ym., 2022) Menetelmän etuna on helppo toteutettavuus panostyypillisesti, mutta kuplan kokoa ja konsentraatiota on vaikea kontrolloida. (Wang & Wang, 2023).

Nesteen leikkausvoimien avulla voidaan myös tuottaa nanokuplia. Esimerkkinä laite, jossa neste virtaa pitkin huokoista kaasunsyöttökomponenttia, tuottaen leikkausvoimia ohivirtaavan nesteen avulla, jossa kaasu hajoaa pieniksi kupliksi. Ulostulon alipaine pumpulla tuotettuna mahdollistaa kaasun matalan syöttöpaineen, joka parantaa paineherkkien kaasujen, kuten otsonin, tehokasta nanokuplien tuotantoa. (Athey & Thiele, 2025) Myös roottori-staattori-laitteistolla saadaan nesteen kaasu hajoamaan pieniksi kupliksi leikkausvoimien avulla. Staattorin rakenne määrittää nanokuplien ominaisuuksia, ja menetelmää on mahdollista skaalata. (Jadhav ym., 2021)

3.7 Käyttökohteet

Huolimatta tiedemaailman epävarmuudesta nanokuplien olemassaolosta ja ominaisuuksista, on nanokuplia käytetty jo monilla eri teollisuuden aloilla. Osassa aloista tekniikka on vasta kehitymässä, mutta lupaavia tuloksia on jo saatu. Nanokuplateknologiaa käytetään joko omana itsenäisenä menetelmänään tai se on uutena osana perinteistä tekniikkaa. (Foudas ym., 2023) Seuraavissa kappaleissa esitellään esimerkkejä käyttökohteista, joista osa on laboratoriotutkimusasteella ja osa jo käytössä.

Vedenkäsittelytekniikka on luonnollisesti suuressa osassa käyttökohteista. Näihin voi lukea flotaatiotekniikat, hapetus- ja desinfiointimenetelmät, biologiset hajotusmenetelmät, adsorptiotekniikat ja kalvojen puhdistusmenetelmät. Muita nanokuplien

käyttökohteita ovat erityisesti lääketieteen sovellukset ja energiatekniikan käyttökohteet. (Favvas ym., 2021; Foudas ym., 2023)

Nanokuplien tärkeä ominaisuus on niiden suuri ominaispinta-ala, joka edistää aineen-siirtoa ja mahdollistaa veden happipitoisuuden nostamisen. (Wang, T. ym., 2024). Tähän kehitettyjä tekniikoita on käytössä muun muassa rehevöityneiden vesien hapettamisessa ja kasvihuoneviljelyssä.

Vuonna 2021 julkaistiin tutkimus, jossa nanokuplatekniikkaa hyödynnettiin muutamien suurehkojen jätevesi- ja kastelulampien vedenlaadun parantamiseen teollisessa mittakaavassa. Kaupallisella nanokuplageneraattorilla tuotetut nanokuplat paransivat veden laatua ja kemiallinen hapenkulutus (COD) ja patogeenien määrä vähenivät merkittävästi. Tutkijat kuitenkin totesivat, että vertailuarvojen puute estää teknologian hyötyjen määrällisen arvioinnin. (Kalogerakis ym., 2021)

Nanokuplia voidaan hyödyntää joko itsenäisesti vesifaasiin tuotettuina tai osana yhdistelmää, jossa ne ovat lisättynä johonkin materiaaliin. Tämä mahdollistaa niiden kohdentamisen tiettyyn kohteeseen. (Foudas ym., 2023) Yu ym. (2019) kehittivät menetelmän, jossa nanokuplat sidottiin mineraalipartikkeleihin. He tutkivat rehevöityneestä vesistöstä nostetuilla sedimenttipylväsnäytteillä, miten mineraalipartikkeleihin sidotut nanokuplat vaikuttivat veden hapen määrään ja fosforipitoisuuteen laboratorio-olosuhteissa. He totesivat hapen määrän lisääntyneen tehokkaasti sedimentin rajakerroksessa ja sedimentistä liuenneen fosforin määrän vähentyneen näytteissä. (Yu ym., 2019)

Nanokuplateknologia on kiinnostanut myös maatalousalaa erityisesti kasvintuotannossa. Wu ym. (2019) tutkivat nanokuplien vaikutusta kasteluedessä tomaatin viljelyssä. Koekasvihuoneessa tomaatteja kasteltiin kolmella eri tavalla, nanokuplilla hapetetulla vedellä, perinteisesti ilmastetulla vedellä sekä tavallisella kasteluedellä kontrolliryhmässä. Tulokset osoittivat, että nanokuplavesikastelu lisäsi kasveille käytökelpoisen typen ja fosforin määrää maaperässä, paransi maaperän entsyymaattista aktiivisuutta ja mikrobitoimintaa, ja johti lopulta hieman suurempaan tomaattisatoon verrattuna muihin ryhmiin.

Mikro- ja nanokuplia on hyödynnetty jätevesien käsittelyssä jo jonkin aikaa. Sakr ym. (2022) tekivät laajan tutkimuskatsauksen mikro- ja nanokuplilla käsiteltyjen jätevesien puhdistukseen. Biologisessa käsittelyssä pienten kuplien on todettu vahvistavan perinteistä makrokuplatekniikkaa ilmastuksessa, desinfioinnissa, flotaatiossa ja edistyneissä hapetusprosesseissa. Tekniikkaa on hyödynnetty haitta-aineiden poistamiseen, sekä laitteistokokojen pienentämiseen, käsittelyaikojen lyhentämiseen ja laitosten käyttö- ja ylläpitokustannusten vähentämiseen. Eri kaasutyyppejä on hyödynnetty erilaisten yhdisteiden hajottamisessa ja esimerkiksi ilma- ja typpikuplia on käytetty aerobisissa ja anaerobisissa reaktoreissa parantamaan mikrobitoimintaa. Otsonista tuotetut mikro- ja nanokuplat ovat osoittautuneet erittäin tehokkaiksi jäteveden käsittelyssä. Edistyneissä hapetusprosesseissa pienet otsonikuplat ovat makrokuplia tehokkaampia niiden erittäin suuren aineensiirtokyvyn ansiosta. Otsonimikro- ja -nanokuplia voidaan hyödyntää tehokkaasti veden desinfioinnissa, sillä niiden pitkä viipymä vedessä tehostaa vaikutusta bakteereja ja sieniä vastaan.

Nanokuplien ominaisuudet tekevät siitä erinomaisen avun mineraalien flotaatiotekniikkaan. Hyvin pienten partikkelien jäädessä isommilta kuplilta liuokseen, nanokuplat toimivat apukeräjäinä adsorboituen partikkelien pinnalle. Nanokuplat voivat parantaa partikkelien ja kuplien välisen törmäyksen ja tarttumisen todennäköisyyttä, mikä edistää paitsi hienojen partikkelien flotaatiota, myös karkeiden partikkelien talteenottoa. (Zhang ym., 2021)

Nanokuplien avulla voidaan hajottaa orgaanisia haitta-aineita. Tutkimuksessa vuodelta 2020 käytettiin fotoreaktiivista järjestelmää hajottamaan karjataloudessa yleisesti käytettyä antibioottia, oksitetrasykliinia näkyvän valon avulla, johon syötettiin lisäksi happinanokuplia. Kuplien lisäys paransi merkittävästi oksitetrasykliinin fotohajoamista korkeassa pH:ssa. Syynä pidettiin nanokuplien tehokasta aineensiirtoa sekä kuplien romahtaessa muodostuvien reaktiivisten radikaalien vaikutusta. (Wang ym., 2020)

Hydrodynaamisella kavitaatiolla tuotetut nanokuplat osoittautuivat erittäin tehokkaiksi orgaanisen väriaineen, rhodamiini B:n poistossa jätevedestä hapetuksen avulla laboratorio-olosuhteissa. Happinanokuplan todettiin olevan tehokkain eri kaasuista ja

poistovaikutus oli lähes yhtä tehokas myös ympäristöstä otetuissa kenttävesinäytteissä, vahvistaen sen käytännön soveltuvuutta. (Wang, B. ym., 2024)

Kyzas, ym. (2019) tutkivat lyijyionin (Pb^{2+}) adsorptiota aktiivihieleen vesiliuoksessa, jossa on nanokuplia. He totesivat adsorption kasvaneen nanokuplien avulla yli kolminkertaiseksi, adsorptiomateriaalin maksimikapasiteetin pysyessä samana. He ehdottivat nanokuplan toimivan kuljetusvälineenä lyijyionille tuoden sen helpommin aktiivihieleen negatiivisesti varautuneen pinnan lähelle.

Suodattimien kalvomateriaalien puhdistuksessa ja likaantumisen estämisessä nanokuplien on todettu olevan tehokkaita. Dayarathne ym. (2019) totesivat nanokuplien estävän tehokkaasti kalvosaostumista käänteisosmoosilaitteen kalvon pinnalla ilman kemikaalien lisäämistä.

Lääketieteellisissä sovelluksissa on jo pitkään käytetty mikrokuplia ultraäänikuvauksen varjoaineina. Nanokuplat ovat osoittautuneet vielä monipuolisemmiksi ultraäänikuvauksessa, sillä niillä on kyky tunkeutua verisuoniston läpi kudoksiin ja antaa mahdollisuuden tutkia haluttua kudosta tarkemmin. Kupla voidaan myös päällystää stabiilisuutta lisäävällä kalvolla, esimerkiksi lipidikerroksella, jolloin kuplan avulla haluttu lääkeaine pystytään kuljettamaan oikeaan kohteeseen kehon sisällä. (Paknahad ym., 2021)

Nanokuplien vaikutusta korroosionestossa on myös tutkittu. Aikawa ym. (2021) tutkivat nanokuplien vaikutusta vähähiilisten teräsputkien korroosionestossa geotermisessä voimalaitoksessa. Tutkimuksessa havaittiin, että ilmananokuplat voivat estää teräksen korroosiota jopa 50 %:n tehokkuudella happamassa geotermisessä nesteessä. Tulokset viittasivat siihen, että nanokuplat päällystävät putket kuplakerroksella ja mahdollisesti edistävät piidioksidin vähäistä saostumista teräspinnalle. Vetynanokuplien lisäämisen vaikutusta bensiiniseokseen on myös tutkittu. Moottoriteho kasvoi hieman 40 %:n kuormalla ja polttoaineen ominaiskulutus oli alempi kuin tavallisella bensiinillä. Tämä johtui vedyn suuresta palamisnopeudesta ja laajasta syttyvyysalueesta. (Oh ym., 2013)

3.8 Nanokuplien kuvaus

Nanokuplien optinen kuvaus on haasteellista, sillä kuplat ovat hyvin pieniä, alle 1 μm :n kokoisia kaasukuplia. Optisen mikroskoopin tarkkuus riittää parhaimmillaan noin 300 nanometrin partikkelin kuvaukseen, joten kuvausmenetelmä on nanokuplille rajallinen. Nanokuplien koko vaihtelee muutamasta kymmenestä nanometristä 1000 nanometriin. Kuplat sisältävät vain kaasua, jolloin ne ovat läpinäkyviä kirkaassa nesteessä. Ne tarvitsevat siitä syystä jonkin kontrastiaineen erottamaan ne nesteestä, jotta ne voidaan havaita.

Azevedo ym. (2016) kuvasivat todennäköisesti ensimmäistä kertaa nanokuplia optisella mikroskoopilla käyttäen kontrastiaineena metyleenisineä. He tuottivat ilmananokuplia hydrodynaamisella kavitaatiolla vedestä, joka oli ylikylläinen ilmasta. Paineastiassa olevaan veteen syötettiin ilmaa, kunnes se oli ylikylläinen, joka sitten purkautui neulaventtiin kautta normaali-ilmanpaineessa olevaan näyteastiaan tuottaen sekä mikro- että nanokuplia. Mikrokuplat nousivat pinnalle ja poistuivat liuoksesta ja nanokuplat jäivät liuokseen. Pisara näytettä kuvattiin optisella mikroskoopilla objektilasilla, jossa kontrastiaineena metyleenisineä. Kuvasta analysoitiin kuplakoko ImageJ-ohjelmistolla (Schneider ym., 2012) ja keskimääräiseksi halkaisijaksi mitattiin 530 nanometriä. Menetelmän rajoite oli optisen mikroskoopin tarkkuus, joka pystyi havaitsemaan vain yli 300 nanometrin nanokuplia. Tämän opinnäytetyön kokeissa käytettiin kuvaukseen pääosin samoja menetelmiä, mutta nanokuplien tuottoon ei käytetty paineastioita, vaan venturi-tyyppistä nanokuplageneraattoria pumpun tuottaman veden paineen avulla. Laite tuottaa vain nanokuplia.

3.9 Nanokuplien bakterisidiset vaikutukset

Nanokuplien ominaisuudet tekevät niistä erittäin kiinnostavan vaihtoehdon kemikaalittomaan desinfiointiin. Ne voivat ehkäistä biofilmien muodostumista ja inaktivoida bakteereita useiden mekanismien kautta. Menetelmä on ympäristöystävällinen, eikä sen käytöstä synny haitallisia sivutuotteita tai toissijaisia saasteita. Nanokuplat eivät vahingoita käsiteltäviä pintoja, ja niiden käyttö on turvallista myös käyttäjille. Soveltuvuus moniin eri käyttökohteisiin sekä alhaiset käyttökustannukset tekevät

nanokuplateknologiasta erittäin houkuttelevan ratkaisun mikrobien torjuntaan. Nanokuplien bakteereihin kohdistuva vaikutus perustuu ensisijaisesti niiden kykyyn tuottaa vapaita happiradikaaleja. Radikaalien voimakas hapettava vaikutus hajottaa bakteerien solurakenteita ja aiheuttaa niiden kuoleman. Lisäksi nanokuplien romahtaminen aiheuttaa paikallisia mikrosuihkuja ja leikkausvoimia, sekä äärimmäisiä lämpötiloja ja paineita. Nämä olosuhteet aiheuttavat bakteerien ja biofilmien rakenteen hajoamisen. (Wang, T. ym., 2024)

Enterococcus faecalis-bakteeria esiintyy normaalisti ihmisten ja eläinten suolistossa ja se on yleisin suolistoperäisistä enterokokeista. Se on gram-positiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen bakteeri, joka kestää hyvin ympäristön stressiä ja voi säilyä elinkykkyisenä pitkiä aikoja vesiympäristössä. Tästä syystä *E. faecalis* toimii tehokkaana indikaattoribakteerina vesitutkimuksissa ulosteperäisen saastumisen arvioinnissa. (Valvira, 2024, s. 6-7) *E. faecalis* voi aiheuttaa vakavia infektoita erityisesti sairaalaolosuhteissa ja heikentyneen vastustuskyvyn omaaville henkilöillä. Se on tunnettu luonnosta resistenssistään monille antibiooteille. (Kolho, 1997)

Legionella pneumophila on aerobinen gram-negatiivinen bakteeri, jota esiintyy yleisesti vesistöissä ja maaperässä. Bakteeri viihtyy lämpimässä, +20...+45 °C:n lämpötiloissa ja menestyy jopa +50°C:ssa, ja se pystyy lisääntymään vesijohtojärjestelmissä, jos veden lämpötilaa ei pidetä tarpeeksi korkeana tai toisaalta tarpeeksi viileänä. Bakteeri voi aiheuttaa ihmiselle legionelataudin, eli legionelloosin, johon liittyy keuhkokuume. Sen epäillään olevan yhä useammin taustalla erityisesti vanhusten keuhkokuumeessa. (Lyytikäinen ym., 2018) Vesijärjestelmässä todettua bakteeria pyritään torjumaan esimerkiksi shokkikloorauksella tai lämpökäsittelyllä, mutta näiden menetelmien haittapuolina ovat muun muassa sivutuotteiden muodostuminen tai vauriot putkijärjestelmissä. Käsittelyt ovat lyhytaikaisia ja bakteerin uudelleenkasvu voi tapahtua hyvin nopeasti. (The European Guidelines Working Group, 2017, s. 110-111)

Kosteissa olosuhteissa bakteerit muodostavat pinnoille biofilmiä, joka koostuu niiden itse tuottamasta limamaisesta suojakerroksesta. Tämä rakenne luo bakteereille suotuisat olosuhteet elämiseen ja lisääntymiseen. Bakteeria voi olla erittäin vaikea torjua biofilmin suojasta, jossa se kestää jopa desinfiointikemikaaleja. Nanokuplien

vaikutuksia bakteerien pitoisuuden vähentämiseksi on käsitelty useissa julkaistuissa tutkimuksissa. Happi- ja otsoninanokuplilla on usein todettu olevan suurempi bakterisidinen vaikutus kuin ilmananokuplilla. Usein mukana on ollut myös toinen lisämene- telmä, kuten UV-säteilytys, jolloin on tutkittu menetelmien yhteisvaikutusta.

Indikaattoribakteeri *Escherichia coli* on yleisesti käytetty mallibakteeri monissa tutki- muksissa sen käytännöllisyyden vuoksi. Ogatan & Muratan (2022) tutkimuksessa sel- vitettiin nanokuplien desinfiointivaikutusta *E. coli*-bakteeria vastaan. Käytössä oli hyd- rodynaamisella kavitaatiolla ilmananokuplia tuottava generaattori. Tutkimuksessa ha- vaittiin, että nanokuplien vaikutus riippuu ratkaisevasti pH:sta, hapan liuos vähentää bakteereja, kun taas neutraali tai emäksinen voi jopa edistää niiden kasvua. Kun liu- oksen pH:ta laskettiin arvoon pH 5, bakteerien vähenemä oli enimmillään 66% verrat- tuna kontrollinäytteeseen. *E. coli*-bakteeri kestää huonosti alhaisia pH-arvoja ja esi- merkiksi Presser ym. (1997) tutkimuksessaan totesivat *E. coli*-bakteerin kasvutahdin vähenevän lineaarisesti H⁺-ionin pitoisuuden kasvaessa ja kasvun pysähtyvän alle pH 4:ssä. Koska Ogatan & Muratan (2022) tutkimuksessa kontrollinäytteen pH oli myös arvossa 5, pelkkä happamuus ei selitä bakteerien vähenemää, vaan tulos viittaa na- nokuplien mahdolliseen lisävaikutukseen. Tutkijat päättelivät myös liuokseen lisätyn vetykloridin (HCl) kloori-ionien (Cl⁻) nopeuttaneen bakteerien vähenemistä kuplien tuottaman pintajännitystä alentavan mekanismin vuoksi, jolloin Cl⁻-ionit pääsivät kon- taktiin bakteerin kanssa helpommin. Mokudai ym. (2024) tutkivat hiilidioksidinanokup- lien vaikutusta *E. coli*-bakteeria vastaan. He tuottivat ultraäänellä hiilidioksidinanokup- lia hiilihapotetusta vedestä ja havaitsivat, että niillä oli merkittävä bakterisidinen vaiku- tus bakteeriin. Vertailussa ultraäänellä puhtaassa vedessä tuotettuihin ilmananokup- liin, hiilidioksidinanokuplat osoittautuivat huomattavasti tehokkaammiksi. Vaikka il- mananokuplatkin osoittivat lievää bakteereja vähentävää vaikutusta, se jäi selvästi vä- häisemmäksi. Erityisen merkittävä havainto oli se, että erityisesti hiilidioksidinanokup- lien bakterisidinen vaikutus säilyi myös ilman dynaamista ärsykettä, mikä viittaa siihen, että ne pystyvät tuottamaan reaktiivisia radikaaleja liuoksessa pitkän aikaa. Tutkijat totesivat myös, että nanokuplakonsentraatio oli keskeinen tekijä kuplien bakterisidisen vaikutuksen kannalta, heidän aiemmassa tutkimuksessaan kuplakonsentraatio oli al- haisempi, eikä bakteereihin kohdistunut vaikutus ollut yhtä tehokas silloin. Juuri jul- kaistu tutkimus (Ninomiya & Hosoi, 2025) selvitti ilmananokuplien ja ultraäänien yhdis- tämistä *E. coli*-bakteerin torjumiseksi. Pelkkä nanokuplavesi ei antanut viitteitä

desinfiointitehosta, mutta valmis nanokuplavesi yhdistettynä ultraääneen toi merkittävän vaikutuksen bakteerin vähenemisessä.

Domingos ym. (2021) tutkivat kala-altaiden patogeenien vähentämistä ilmananokuplilla. Tutkimuksen kohteena oli neljä gram-positiivista ja -negatiivista bakteeria, joita inkuboitiin pienissä laboratorioaltaissa. Ilmananokuplilla ei havaittu olevan mitattavaa vaikutusta bakteerien vähenemiseen verrattuna kontrolliin ja tutkijat ehdottivat muiden kaasujen käyttöä desinfioivien ominaisuuksien parantamiseksi. Jhunkeaw ym. (2021) tuottivat tutkimuksessaan otsoninanokuplia samanlaisella nanokuplageneraattorilla, kuin Domingos ym. (2021). He osoittivat otsoninanokuplien olevan tehokkaita kalojen taudinaiheuttajia vastaan. Desinfiointiteho oli kuitenkin selvästi parempi puhtaassa hannedessä, kuin kala-altaasta otetussa vedessä. Teho oli heikompi kala-allasnäytteissä niiden sisältämän orgaanisen kuorman ja yhdisteiden vuoksi, jolloin otsoni hajosi ennenaikaisesti muihin reaktioihin.

Nanokuplien tehoa on tutkittu yhdistämällä niitä muihin menetelmiin. Shiroodi ym. (2021) selvittivät nanokuplien tehoa biofilmien käsittelyssä. He käsittelivät *Escherichia coli*-, *Vibrio parahaemolyticus*- ja *Listeria innocua*-bakteerien muodostamia biofilmejä happinanokuplilla, neutraalilla elektrolysoidulla vedellä (NEW), sekä näiden yhdistelmällä. Alustavissa kokeissa he olivat todenneet happinanokuplilla olevan enemmän biofilmiä estäviä vaikutuksia kuin ilma- tai hiilidioksidinanokuplilla. Happinanokuplilla todettiin biofilmiä jonkin verran vähentävä vaikutus, mutta parhaan tuloksen antoi happinanokuplien ja NEW-veden yhdistelmä. NEW-vesi sisältää vapaata klooria, jonka vaikutusta nanokuplat todennäköisesti tehostivat edistämällä sen tunkeutumista biofilmiin. Saman tutkimusryhmän aikaisempi tutkimus (Rafeeq ym., 2020) keskittyi nanokuplien suoraan antibakteeriseen vaikutukseen, kun äsken mainittu työ tarkasteli vaikutusta bakteerien muodostamaan biofilmiin. He totesivat, etteivät nanokuplat yksinään merkittävästi vähentäneet bakteerien määrää, mutta yhdistettynä ultraääneen bakteerien määrä väheni 3-6 log pmy/ml, eli pesäkettä muodostavaa yksikköä millilitrassa logaritmiasteikolla.

Tuoreessa tutkimuksessa vuodelta 2025 tutkittiin happinano- ja -mikrokuplien vaikutusta biofilmien hallintaan talousveden jakelujärjestelmissä laboratorio-olosuhteissa. Tutkimuksessa havaittiin, että happinano- ja -mikrokuplat estivät tehokkaasti

biofilmien muodostumista ja vähensivät niiden kuivapainoa jopa 77,8 %. Nano- ja mikrokuplien vaikutukset vaihtelivat biofilmin kasvun eri vaiheissa; ne vaikeuttivat mikrobien kiinnittymistä putkistoon ja tuottivat romahtaessaan hydroksyyliiradikaaleja, jotka hajottivat mikrobeja ja muuttivat mikrobiyhteisöjen rakennetta. Huuhtoutumis- ja adsorptiovaikutusta todettiin tasaisen vaiheen aikana. Tämän seurauksena bakteeripopulaatioiden monimuotoisuus väheni ja veden orgaanisen aineksen (TOC) pitoisuus väheni 87,9 %. (Luo ym., 2025)

Tutkimuksia, joissa on tarkasteltu nanokuplien vaikutusta *Enterococcus faecalis*-bakteeriin löytyi jonkin verran, mutta lähes kaikissa tutkimuksissa kuplat olivat toisen menetelmän lisänä tai käytetty nanokuplakaasu oli otsonia. Tutkimuksessa vuodelta 2020 arvioitiin otsoninanokuplien vaikutusta useisiin gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin patogeeneihin. Bakteerit lisättiin nanokuplia sisältävään veteen ja arvioitiin nanokuplaveden bakteereihin kohdistuvaa vaikutusta eri nanokuplalaimennoksilla. Tutkimuksessa havaittiin *E. faecalis*-bakteerin täydellinen häviäminen 2 minuutin käsittelyn jälkeen laimentamattomassa otsoninanokuplavedessä. Teho laski selvästi laimennosten myötä. Kontrollina käytetyllä 0,9 % NaCl -liuoksella ei ollut merkittävää antibakteerista vaikutusta verrattuna otsoninanokuplaveteen. (Osman ym., 2020)

Hakujen perusteella ei löytynyt julkaistuja tutkimuksia, joissa olisi tarkasteltu nanokuplien vaikutusta *Legionella pneumophila*-bakteeriin. Monet tutkimukset käsittelivät *Legionella*-bakteerin otsonointia, kloorausta tai UV-valoon perustuvaa desinfiointia, joiden vaikutusmekanismi perustuu soluille aiheutettavaan oksidatiiviseen stressiin vapaiden radikaalien tai muiden reaktiivisten happilajien kautta. (Loret ym., 2006) Koska nanokuplat romahtaessaan myös tuottavat reaktiivisia happiradikaaleja, voi niillä mahdollisesti myös olla hajottava vaikutus *L. pneumophila* -bakteeriin.

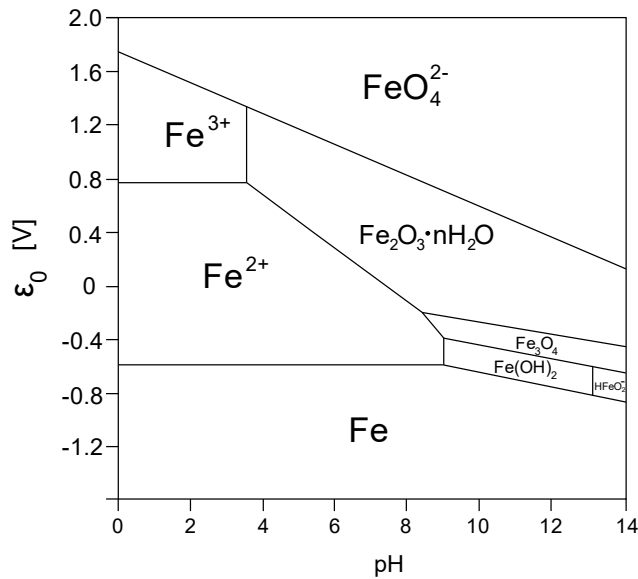
Tutkimuksessa vuodelta 2018 tutkittiin veteen liunneen otsonin vaikutusta *Legionella pneumophila*-bakteeriin ionivaihdetussa vedessä ja jätevedessä. Otsonia syötettiin veteen generaattorilla kontrolloidusti, jolloin se liukeni veteen pysytellen pienessä pitoisuudessa. Pitoisuus haluttiin pitää matalana, jotta voitiin mallintaa todellisia vedenkäsittelyolosuhteita. Otsoni inaktivoi bakteereja sekä suoraan hapettamalla että epäsuorasti muodostamiensa radikaalien välityksellä. Otsonin todettiin olevan erittäin tehokas *Legionellan* inaktivointiin ionivaihdetussa vedessä, erityisesti korkeammissa

lämpötiloissa. Jäteveden orgaaninen aines heikensi otsonin tehoa bakteerien inaktivoinnissa, sillä otsoni reagoi ensisijaisesti orgaanisten yhdisteiden kanssa, mikä pidentäisi merkittävästi sen vaikutusaikaa *Legionellan* inaktivointiin. (Li ym., 2018)

3.10 Nanokuplien vaikutus raudan hapettumiseen

Kahdenarvoisen raudan (Fe^{2+}) hapettumisella kolmenarvoiseksi (Fe^{3+}) on monia käytännön merkityksiä. Talous- ja jäteveden käsittelyssä raudan hapettuminen on oleellinen osa puhdistus- ja saostumisprosessia. Fe^{2+} esiintyminen talousvesiputkijärjestelmissä voi johtaa veden värjäytymiseen, epämiellyttäviin maku- ja hajuhaittoihin sekä putkistojen korroosioon. Raudan hapettuminen on myös tärkeä reaktio jäteveden puhdistuksessa, sillä Fe^{3+} sitoo fosfaattia tehokkaammin kuin Fe^{2+} . (Sun ym., 2021) (Muk-minim ym., 2023)

Kuviossa 1, raudan Pourbaix-diagrammilla kuvataan, miten rauta käyttäytyy vesiliuoksessa eri pH- ja potentiaalueilla. Alhaisilla potentiaaleilla rauta esiintyy metallisessa muodossa, ja potentiaalin kasvaessa se liukenee ionimuodossa veteen tai saostuu eri yhdisteinä pH:sta riippuen. Diagrammissa kuvataan alkuaineen tai sen yhdisteiden termodynaamisesti stabiileimmat muodot. Kaava (6) kuvaa raudan redox-yhtälöä, jossa kahdenarvoinen rauta hapettuu kolmenarvoiseksi.



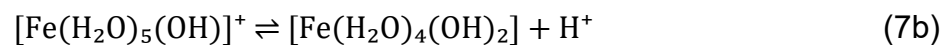
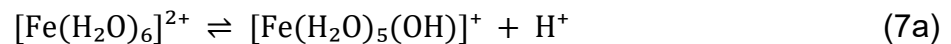
Kuvio 1. Raudan Pourbaix-diagrammi, (Früh, n.d.)

Raudan redox-yhtälö



Liuetessaan veteen Fe^{2+} -ionit muodostavat hydratoituneita komplekseja, kuten rauta(II)heksahydraattia ($\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$). Hydratoitunut Fe^{2+} -ioni voi toimia heikkona happona, jolloin se hydrolysoituu vaiheittain happo-emäsreaktioiden kautta, reaktiokaavat (7a) ja (7b). pH vaikuttaa merkittävästi siihen, miten pitkälle tämä kompleksi hapettuu tai hydrolysoituu liuoksessa. Alhaisessa pH:ssa H^+ -konsentraatio on suuri ja reaktioiden tasapaino on lähtöaineiden puolella, jolloin Fe^{2+} ei hydrolysoitu.

Hydratoituneen Fe^{2+} -ionin vaiheittainen hydrolyysi



Hydratoituneet kompleksit hidastavat hapettumisreaktiota. Tämä johtuu siitä, että vesimolekyylit ympäröivät Fe^{2+} -ionia, estäen elektronien siirtymistä hapen ja raudan välillä, mikä tekee hapettumisesta hyvin hidasta. (Sun ym., 2021)

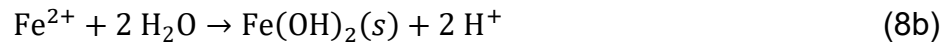
Molekulaarisen hapen liukeneminen veteen, kaava (8a), mahdollistaa raudan hapettumisen ja saostumisen. Kaava (8a-d) kuvaa raudan hapettumista ja saostumista hapetta sisältävässä vesiliuoksessa. Kahdenarvoinen rauta hapettuu kolmenarvoiseksi molekulaarisen hapen vaikutuksesta, joka saostuu veteen rauta(III)hydroksidina ($\text{Fe}(\text{OH})_3$). (Newton, 2023)

Raudan hapetus ja saostus molekulaarisella hapella. (Newton, 2023; Sharma, 2001)

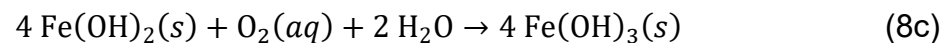
Hapen liukeneminen



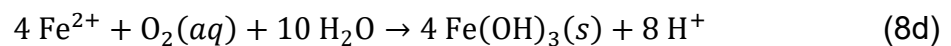
Rautaionien hydrolysaatio



Rautaionien hapettuminen

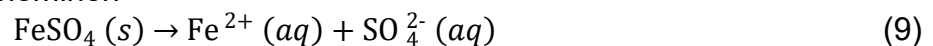


Kokonaisreaktio



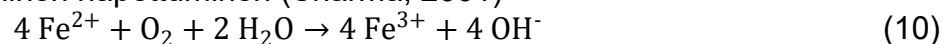
Rautasulfaatti (FeSO_4) on vesiliukoinen rautayhdiste, jossa rauta esiintyy Fe^{2+} -muodossa. Rautasulfaatti liukenee, kaava (9), ja hydrolysoituu liuokseen, jolloin syntyneet H^+ -ionit alentavat liuoksen pH:ta.

Rautasulfaatin liukeneminen



Kun liuoksessa on happea, Fe^{2+} voi hapettua Fe^{3+} -muotoon liuoksessa myös homogeenisesti, ilman saostumista. Liuoksen pH:n pysyessä alle 4:ssä, hapettunut rauta pysyy liukoisena, kaava (10). (Sharma, 2001, s. 17) Hapettumisen on todettu olevan voimakkaasti pH-arvosta riippuvainen, jolloin alhaisissa pH-arvoissa raudan hapettuminen etenee hyvin hitaasti. (Sharma, 2001, s. 13).

Raudan homogeeninen hapettuminen (Sharma, 2001)



Raudan hapettumisen nopeuteen vaikuttavia tekijöitä ovat esimerkiksi liuoksen alkali- niteetti sekä kohonnut lämpötila. Reaktio edellyttää lisäksi riittävää liuenneen hapen määrää. Hapettumista voidaan nopeuttaa katalyytilla, esimerkiksi tietyt ionit, kuten kupari-ioni (Cu^{2+}), voi toimia hapettumista edistävänä tekijänä. Myös rautaa hapettavat mikro-organismit voivat toimia biologisina katalyytteina. Matalassa pH:ssa raudan hapettumista voidaan tehostaa vaihtoehtoisilla hapettimilla, kuten vetyperoksidilla tai otsonilla. (Sharma, 2001, s. 15-17, 20) Nanokuplat voivat osaltaan edistää hapettumista happiradikaalien avulla ja lisäämällä hapen saatavuutta liuoksessa. Kuplan negatiivinen pintavarauus myös houkuttelee positiivisesti varautunutta rauta-iona pinnalleen, jossa ne ovat alttiimpia hapettumiselle.

Sun ym. (2021) tarkastelivat happinanokuplien soveltuvuutta Fe^{2+} -ionien hapettamiseen vesiliuoksessa. Heidän tavoitteenaan oli kehittää nanokuplateknologiaa, joka olisi perinteistä ilmastus- ja kemiallista esikäsittelymenetelmää yksinkertaisempi ja tehokkaampi tapa poistaa rautaa vedestä. Nanokuplat tuotettiin keraamisella suuttimella paineen avulla happisäiliöstä. He tutkivat, miten raudan lähtöpitoisuus, liuoksen pH ja ilmastuspaine vaikuttivat hapetusprosessiin. Tutkimuksessa käytettiin avuksi mallinusta optimaalisten olosuhteiden löytämiseksi. Tulokset osoittivat, että näillä kolmella muuttujalla on merkittävä vaikutus hapettumistehokkuuteen, ja että prosessi on hyvin ennustettavissa. Optimaalisin Fe^{2+} -ionien hapetus saavutettiin, kun raudan lähtöpitoisuus oli 13,7 mg/l, liuoksen pH oli 9 ja ilmastuspaine 290 kPa. Tällöin saavutettiin lähes 99% hapettuvuus raudalle. Korkea ilmastuspaine lisäsi hapen liukenemistä, pienensi nanokuplien kokoa, lisäsi niiden määrää, ja paransi sekä massansiirtoa että radikaalien muodostumista.

Fu ym. (2021) kehittivät venturityyppisen mikrokuplageneraattorin Fe^{2+} -ionien hapettamiseen. Heidän tarkoituksenaan oli löytää perinteisen ilmastuksen korvaava tehokkaampi tapa raudan hapettamiseen hydrometallurgisessa liuotusprosessissa. Tutkimuksessa todettiin, että ilman korkeatehoinen syöttö sekä sen virtausnopeuden kasvattaminen, korkea lämpötila ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$), pH:n säätäminen arvoihin 5–6 sekä kupari-ionien lisääminen liuokseen tehostavat merkittävästi raudan hapettumista mikrokuplien avulla. Mikrokuplat lisäsivät liuenneen hapen määrää liuoksessa korkean

aineensiirtokapasiteetin avulla, mikä nopeutti reaktiota. Menetelmä lyhensi raudan poistoaikaa ja alensi energiankulutusta verrattuna perinteisiin ilmastusmenetelmiin.

3.11 Veden kiehumispiste

Kiehumisen on yleinen fysikaalinen ilmiö, jonka voisi kuvitella olevan tieteellisesti hyvin selvitetty. Kuitenkin nanomittakaavassa ilmiö on vielä osittain selvittämättä. (Cavicchi & Avedisian, 2007). Kiehumisen ja kavitaatio ovat mekanismiltaan samanlaisia, mutta niiden termodynaaminen reitti on erilainen. Kun kavitaatiossa faasinmuutos aiheutuu paineen vaihtelusta, kiehumisessa sen aiheuttaa lämpötilan muutos. On melko helppoa saada aikaan tasainen paineen muutos nesteessä, mutta on vaikeaa aiheuttaa tasainen lämpötilan muutos koko nesteeseen. (Brennen, 1995, 1.5 Cavitation And Boiling)

Veden kiehumista kattilassa liedellä sanotaan vapaakiehumiseksi (pool boiling). Levy lämmittää nestettä, joka alkaa kerrostua lämpötilaeroista. Lämpö alkaa kulkeutua luonnollisen konvektion avulla. Kun neste kattilan pohjassa saavuttaa riittävän suuren lämpötilan, nukleaatiokohtia alkaa syntyä pieniin koloihin ja epätasaisuuksiin kattilan pohjassa. Höyrykuplia muodostuu, ne kasvavat kokoa, irtoavat ja nousevat pinnalle siirtäen höyryä pois nesteestä. Kiehumiseen vaikuttaa merkittävästi kiehumisolosuhteet, esimerkiksi lämpövuoto, nesteen ja höyryn ominaisuudet, pinnan materiaali sekä lämmitetyn pinnan fyysinen koko. Kiehumisen kokonaislämmönsiirrolle on olemassa matemaattisia malleja, mutta tarkka mekanismi, miten lämpö siirtyy kuplien mukana, ei ole täysin tiedossa ja siihen on olemassa useita eri teorioita ja malleja. (Carey, 2020, s.249-251)

Zou ym. (2018) tutkivat pintananokuplien roolia nesteen kiehumisen käynnistämisessä. He esittivät teoreettisen analyysin, jossa nanokuplat toimisivat välivaiheena nesteen muuttuessa kaasuksi, alentaen kiehumisen energiakynnystä. Pintananokuplat toimisivat metastabiileina välitiloina, jotka helpottaisivat nesteen kiehumisen nukleaatiota estämällä kuplan ytimen kutistumista ja luomalla matalaenergisiä nukleaatiotapoja.

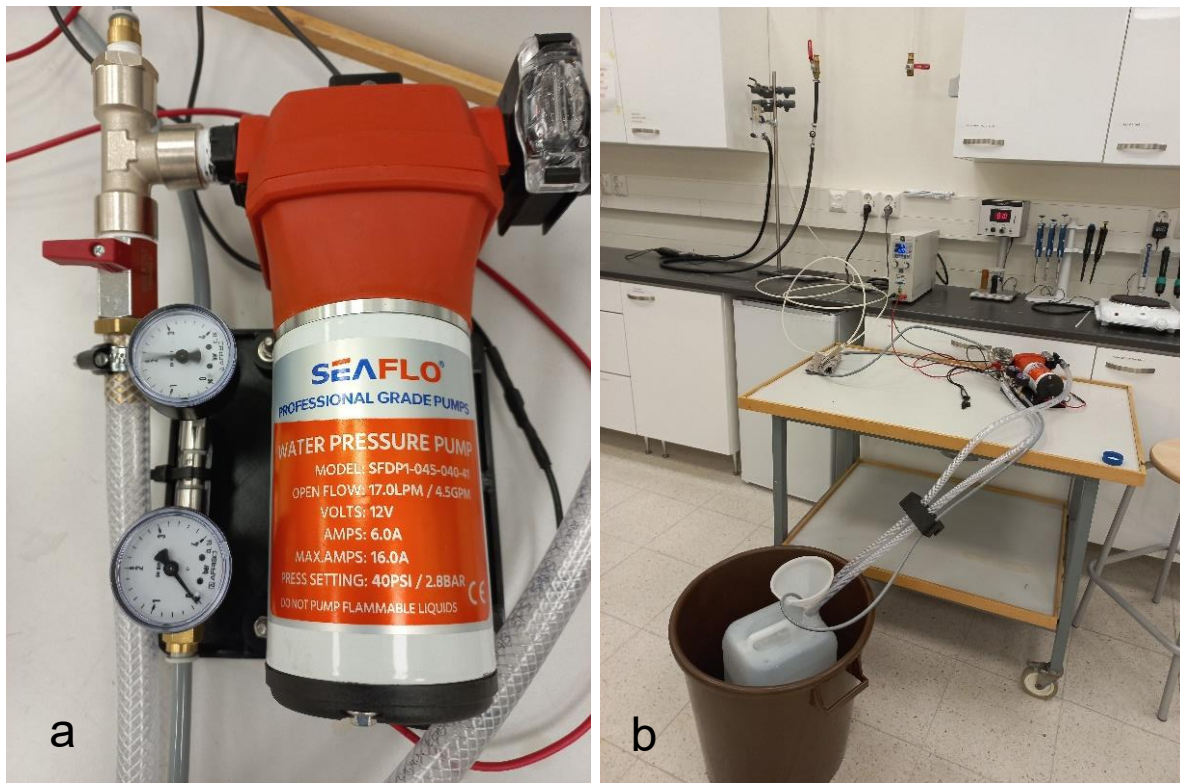
Kosheleva ym. (2022) tutkivat bulkkinanokuplien konsentraatiota, stabiilisuutta ja kiehumispistettä nanokuplavettä kiehuttamalla. He totesivat nanokuplien pitoisuuden kasvua vettä keitetäessä, johtuen pintananokuplien irtoamisesta astian seinästä ja jääden liuokseen. Kiehutusta ei poistanut bulkkinanokuplia, sillä suuret vesihöyrykuplat työntävät ne pois tieltään eivätkä päästä niitä nousemaan pintaan, missä ne voisivat hajota. He totesivat myös, ettei nanokuplaveden kiehumispiste noussut, mutta nanokuplat mahdollisesti nopeuttavat kiehumisprosessia edesauttamalla nukleaatiopisteiden syntymistä. Zhang ym. (2014) totesivat tutkimuksessaan myös, että pinnalle kiinnittyneet nanokuplat kestivät jopa kiehumislämpötiloja.

4 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

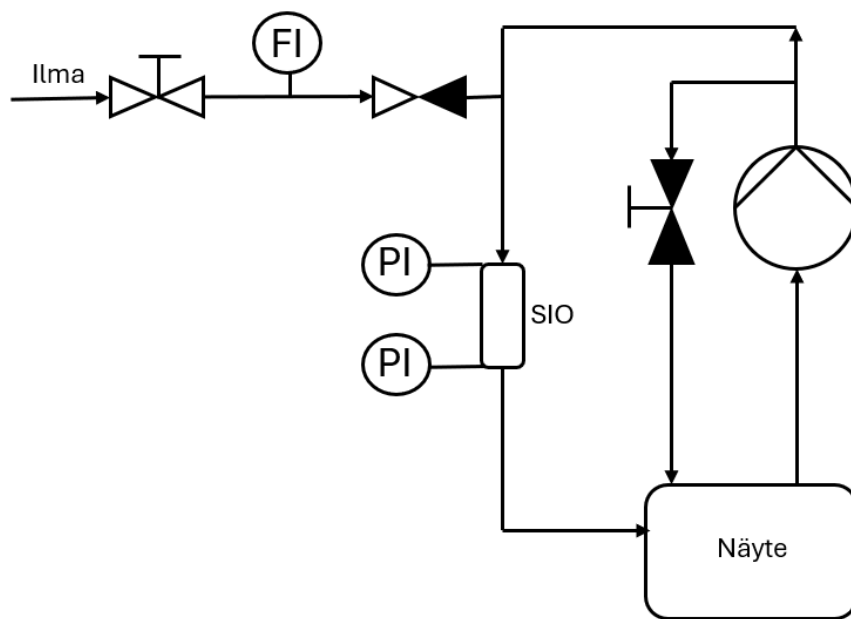
Tutkimuksessa hyödynnettiin ilmananokuplia ja tutkittiin niiden vaikutuksia eri menetelmin. Ilmaa on helposti saatavilla ja sitä voidaan tarvittaessa käyttää myös suuressa mittakaavassa. Nanokuplien tuottoon oli käytössä kaupallinen nanokuplageneraattori, joka tuottaa nanokuplia pääosin hydrodynaamisella kavitaatiolla. Hydrodynaaminen kavitaatio on yksi parhaiten soveltuvista, helposti skaalattavissa olevista nanokuplien tuottomekanismeista. Vettä kierrätti kalvopumppu ja laitteistoon oli mahdollista syöttää paineilmaa. Nanokuplia pyrittiin todentamaan ensin optisella mikroskoopilla. Tämä on osoittautunut aiemmin haastavaksi kuplien pienen koon takia. Vaikutusta bakteeripitoisuuden vähentämiseksi tutkittiin kahdella eri bakteerilla, *Enterococcus faecalis* ja *Legionella pneumophila*. Bakteerit valittiin saatavuuden ja käyttökelpoisuuden mukaan. Raudan hapetusta kolmenarvoiseksi tutkittiin rautasulfaattiliuoksessa kahdella eri lähestymistavalla, joista toisessa oli mukana dynaaminen ärsyke. Veden kiehumispistettä ja lämpötilan nousunopeutta tutkittiin tavallisen veden ja nanokuplaveden välillä. Tutkimus haluttiin pitää helposti skaalattavana käytännön kohteisiin esimerkiksi pilottikäyttöön vesijärjestelmän yhteyteen, jolloin mukaan ei otettu lämpötilojen nostoa tai veteen lisättäviä katalyytteja. Koeasetelmat suoritettiin muuttamatta näytteiden pH:ta, lukuun ottamatta nanokuplien kuvausta. Seuraavissa kappaleissa esitellään käytetty laitteisto sekä kokeiden kulku. Tulokset ja johtopäätökset esitellään omana osionaan lopuksi.

4.1 Laitteisto

Tämän raportin kokeellisen osuuden laitteisto koostui nanokuplageneraattorista, pumpusta ja letkulinjaan liitetystä paineilmastä. Näytevetenä käytettyä ionivaihdettua vettä kierrätettiin Seaflo 12 V kalvopumpulla (kuva 1a), joka liitettiin EA 1000W virtalähteeseen. Näyteastioina toimivat useimmissa kokeissa 10 litran muovikanisterit. Letkulinjaan liitettiin paineilma T-haaran ja takaiskuventtiilin kautta. Paineilman säätöön käytettiin neulaventtiiliä ja N₂-mittaukseen tarkoitettua rotametria. Laitteisto näkyy kuvassa 1b toiminnassa. Työssä käytetyn laitteiston PI-kaavio on esitetty kuviossa 2.



Kuva 1. Tutkimuksessa käytetty pumpu, nanokuplageneraattori ja paineenmittaus (a) ja koelaitteisto toiminnassa (b).



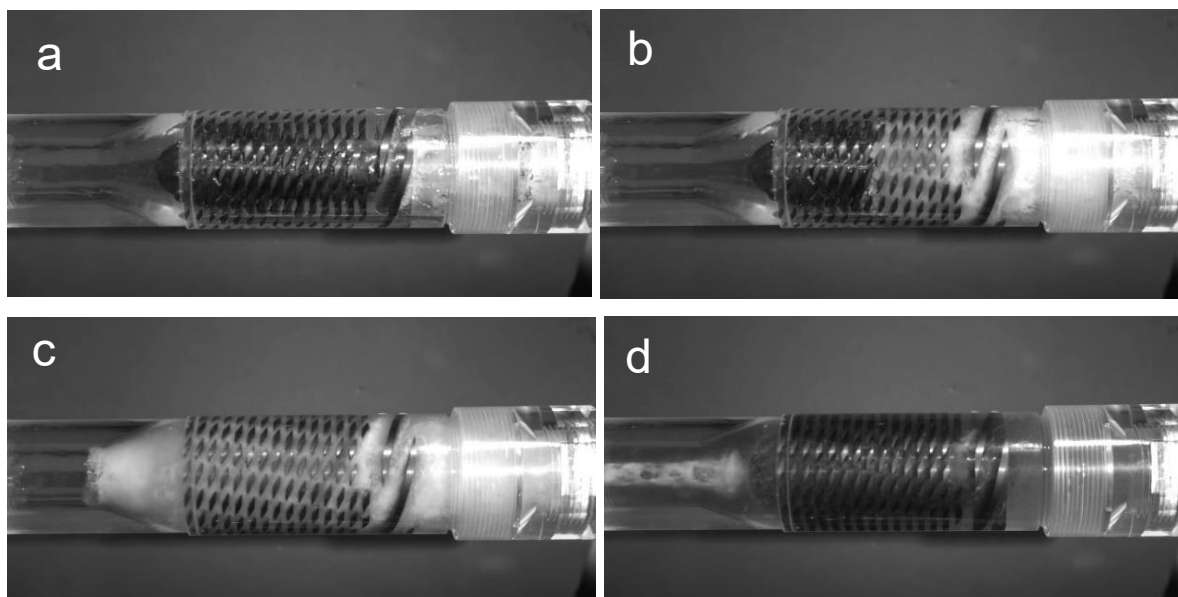
Kuvio 2. Laitteiston PI-kaavio

Kokeellisen tutkimuksen nanokuplat tuotettiin ruostumattomasta teräksestä valmistetulla Micro SIO-nanokuplageneraattorilla, kuva 2, jonka edustaja Suomessa on EOD Europe. Laitteen tarvitsema virtausnopeus on 0,5–3,0 l/min ja toimintapainealue 1-10 bar, mutta hyvään nanokuplamuodostumiseen riittää toiminta-alue 2-3 bar. (Niskakoski, 2025). Laite tuottaa valmistajan sivujen mukaan nanokuplia, joiden koko on keskimäärin 85 nm. Laite käyttää kuplien tuotossa hydrodynaamista kavitaatiota ja leikkausvoimia. Nämä tuotetaan kolmella eri menetelmällä, staattisella sekoituksella, pyörrevirtauksella ja venturi-vaikutuksella. (SIO Nanobubble, 2023a) Laite oli asennettu osaksi letkulinjaa.



Kuva 2. Micro SIO-nanokuplageneraattori, jonka päissä letkujen pikaliittimet.

SIO-laitteen patentoitu toimintamekanismi on näkyvillä laitteen valmistajan hidastetussa videossa, josta still-kuvasarja (kuva 3a-d) on otettu. Valmistaja on tehnyt kuvausta varten läpinäkyvän demonstraatiolaitteen. Virtaus on oikealta vasemmalle, jolloin vesi tulee sisään oikealta mikrokanavien kautta, kuvassa 3a. Tämän rakenteen leikkauskuvaa ei ole saatavilla, eikä rakenne näy demonstraatiovideossakaan. Valmistaja kuvailee menetelmää staattiseksi sekoitukseksi, jossa neste syötetään pakotetusti sekoituselementtien kuvioden yli, joka tuottaa homogeenisen nestesuihkun. (SIO Nanobubble, 2023b) Kuvassa 3b neste jatkaa kierteiseen kanavaan, jossa neste pakotetaan kierrevirtaukseen. Virran voimakas keskipakovoima synnyttää nopeuseroja nesteeseen, jolloin syntyy pieniä kuplia nesteen voimakkaan iskeytymisen ja leikkausvoimien seurauksena. (SIO Nanobubble, 2023b) Kuvassa 3c kierteinen vesimassa ohjataan venturi-tyyppiseen rajoittimeen, josta purkautuessaan muodostuu lisää kuplia. Kierteinen virtaus mahdollisesti aiheuttaa myös vortex-kavitaatiota, jossa pyörteen keskellä paine laskee höyrynpaineen alapuolelle. (Brennen, 1995, 7.6 Vortex Cavitation). Kuvassa 3d virtaus on tasoittunut, nesteen ollessa lähes kirkasta. Valmistaja kertoo sivuillaan Micro SIO-nanokuplageneraattorin tuottavan nanokuplia keskimäärin koossa 85 nm, jolloin ne ovat ihmissilmään näkymättömiä. (SIO Nanobubble, 2023a).



Kuva 3. Havainnekuvakollaasi Micro SIO-nanokuplageneraattorin virtauksesta. Py-säytyskuvat videosta (a-b-c-d). (Ultrafine Technologies & Solutions by PII, 2020)

Nanokuplien kuvaukseen käytettiin optista mikroskooppia Nikon DS-Fi3, jossa oli kiinteästi asennettu kamera ja kameran ohjelmistona NIS-Elements L v. 1.1. Bakteerikoikeissa käytössä oli suodatuslaitteisto, lämpökaappi ja pesäkelaskuri sekä IDEXX Legiolert-menetelmä. Legiolert on IDEXXin kehittämä menetelmä *Legionella pneumophila*-bakteerin määrittämiseen. Tulokset lasketaan MPN (Most Probable Number)-menetelmällä, jossa tuloksena on todennäköisin mikrobipitoisuus 100 millilitraa kohden. (IDEXX Laboratories, 2017) Rautapitoisuuksien mittauksiin oli käytössä UV/VIS spektrofotometri. Bakteeri- ja rautapitoisuuskokeissa käytössä oli pH-mittareita, johtokyky-, lämpö- ja happipitoisuusmittari. Veden kiehumispisteen kokeessa käytettiin termostaatilla varustettua 2000 watin keittolevyä. Lämpötilamittaukseen käytettiin koetta varten rakennettua testilaitteistoa, jossa DS18B20 digitaalinen lämpömittari (tarkkuus $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ alueella -10°C - $+85^{\circ}\text{C}$) ja ESP 32WROOM ohjelmisto digitaaliseen tallennukseen. Ilmanpainetta tarkkailtiin Air Velocity Meter 9565-mittarilla (tarkkuus $\pm 2\%$ lukemasta).

4.2 Käsittely SIO-nanokuplageneraattorilla

Näytevetenä käytettyä ionivaihdettua vettä kierrätettiin pumpulla Micro SIO-nanokuplageneraattorin läpi ja generaattorin molemmissa päässä oli paineen mittausta. Seuraavassa taulukossa 1 on esitetty käytetyt asetukset pumpulle.

Taulukko 1.

Tapa	Paineilman syöttö SIO-käsittelyn aikana	Pumpun teho	Paine ennen SIO	Paine SIO:n jälkeen	Virtaus
1	kyllä	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min
2	ei	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min
3	ei	62,0 W	2,4(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	2,74 l/min

Pumpun teho pidettiin kokeissa välillä 43,2–62,0W (virta 9A–10A, jännite 4,7–6,2V). Paine ennen SIO-laitetta oli pienemmällä teholla 2(±0,1)bar, suuremmalla teholla 2,4(±0,1)bar ja molemmissa paine SIO-laitteen jälkeen oli noin 0,1(±0,1)bar (käväisi hetkittäin 0,3 baarissa). Vaihteluvälit johtuivat kalvopumpun kehittämän virtauksen pulssimaisuudesta. SIO-laitteen läpivirtaus pienemmällä teholla oli 1,87 l/min ja suuremmalla teholla 2,74 l/min. Laitteistossa oli myös ohivirtauslinja, jota käytettiin lähinnä pumpun käynnistysvaiheessa virtauksen tasoittamiseksi, muulloin se oli kiinni-asennossa.

Letkulinjaan liitettiin paineilma T-haaran ja takaiskuventtiilin kautta. Säättöön käytettiin neulaventtiiliä ja N₂-mittaukseen tarkoitettua rotametriä. Paineilmalaitteistossa havaittiin olevan jokin häiriö, eikä se pitänyt paineilman tuottoa tasaisella tasolla. Paineilmaa saatiin syötettyä tasaisesti enintään noin 0,1 l/min (N₂), sillä liika ilma kertyi SIO-laitteeseen ja pumppuun ja aiheutti veden virtaukseen katkoja. Käsittelemätöntä näytettä paineilmalla kuplittamalla saatiin näytteen happipitoisuuden lähtötaso korkeammaksi.

4.3 Nanokuplien havainnointi mikroskoopilla

Työn tarkoituksena on osoittaa, että hydrodynaamisen kavitaation avulla veteen saadaan nanokokoluokan ilmakuplia. Näytevetenä käytettyä ionivaihdettua vettä kierrätettiin pumpulla nanokuplageneraattorin läpi, näyte värjättiin, mikroskopoitiin ja kuvattiin mikroskoopin kameralla. Saadut kuvat käsiteltiin Excelillä ja ImageJ-ohjelmistolla. (Schneider ym., 2012)

Kuvauksessa vaihdeltiin kuvausalustaa kyvetin ja objektilasin välillä, metyleenisinen lisäystepää, SIO-käsittelyn aikaa, näytteen ilmastustapaa ja -aikoja, käsittelyn näytteen määrää, pumpun tehoa sekä säädettiin pH:ta. Näillä muutoksilla pyrittiin löytämään käsittelytapa, jolla kuplia saisi näkyviin. Kuvausyrityksiä tehtiin noin 30 kpl. Ilmastuksella ennen SIO-käsittelyä ja paineilman syötöllä kokeen aikana pyrittiin saamaan näyte ylikylläiseksi hapestaa. Pumpun tehoa säätämällä ja SIO-käsittelyajan muutoksilla pyrittiin kasvattamaan näytteen kuplakonsentraatiota. Kuvausalustaa ja metyleenisinen lisäystepöjä vaihdellen pyrittiin saamaan riittävä kontrasti kuplien havaitsemiseksi. pH:ta säädettiin, sillä sen muutoksella on vaikutusta kuplien kokoon ja stabiilisuuteen, alhaisemmassa pH:ssa kuplakoko kasvaa, mutta ne ovat epästabiilimpia, korkeammassa pH:ssa kuplat ovat pienempiä, mutta stabiilimpia. Kiehutettua nanokuplavettä oli saatavilla kiehutuskokeesta, josta myös yritettiin saada nanokuplia näkyviin. Muutokset eri kokeiden välillä ovat kuvattu liitteessä 1, taulukossa 1.

Ensimmäisessä kokeessa näytteiden otto SIO-käsittelyyn kuluvan ajan suhteen päätettiin ajoittaa seuraavasti: 6 min - 12 min – 20 min. Näytettä otettiin kerralla 300 ml:a dekantterilasiin, johon lisättiin 0,5 ml metyyleenisinistä ($C_{16}H_{18}N_3SCl$, VWR Chemicals), pitoisuudeltaan 1,0 g/l. Liuos sekoitettiin kevyesti ja 2,5 ml:n muovinen kyveti täytettiin näytteellä, joka suljettiin ilmatiiviisti parafilmillä. Näyte mikroskopoitiin 1000x suurennoksella immersioöljyn kanssa. Koe toistettiin neljä kertaa.

Toisessa kokeessa näyte ilmastettiin paineilmalla kuplittamalla sitä yhden tunnin ajan ylikylläiseksi hapestaa ennen SIO-käsittelyä. SIO-käsittely kesti 20 minuuttia. Värjäykseen käytettiin kiinteää metyleenisinistä 50,0 mg, joka liuotettiin 100 ml:an näytettä. Näytteen pH säädettiin seitsemään muutamalla tipalla 0,01 molaarista

natriumhydroksidia (NaOH). Näytteestä otettiin pipetillä yksi pisara näytettä objektilasille ja sen päälle laitettiin peitelasi ja näyte mikroskoipoitiin. Koe toistettiin noin kymmenen kertaa.

Kolmannessa kokeessa näyte käsiteltiin 800 ml:n dekanterilasissa, jossa se ilmastettiin ensin 10 minuutin ajan ja SIO-käsiteltiin 5 minuutin ajan. Näytteen pH säädettiin 1 M:lla vetykloridilla (HCl) arvoon 3,53. Näytettä otettiin 100 ml ja se värjättiin 50,0 mg:lla metyleenisineä. Näytettä otettiin pisara objektilasille ja se mikroskoipoitiin. Koe toistettiin viisi kertaa.

Neljännessä kokeessa näyte käsiteltiin 10 litran kanisterissa ja SIO-käsittely kesti 20 minuuttia, eikä näyteveettä ilmastettu ensin, eikä sen pH:ta säädetty. Näytettä otettiin 100 ml ja se värjättiin 50,0 mg:lla metyleenisineä. Näytteitä tehtiin myös saatavilla olleesta kiehutetusta SIO-vedestä, joka suoritettiin kuin koe 2, lukuun ottamatta pH:n säätöä. Kokeita toistettiin yhteensä noin kahdeksan kertaa.

4.4 Bakterisidisten vaikutusten kokeellinen osuus

Tässä työssä arvioitiin nanokuplien bakterisidistä tehoa *Enterococcus faecalis*- ja *Legionella pneumophila*-bakteereihin. Tutkittavat bakteerit valittiin saatavuuden ja käytökelpoisuuden mukaan. *Legionella*-bakteeri valikoitui tutkimuskohteeksi myös siitä syystä, että se muodostaa merkittävän ajankohtaisen riskin vesijärjestelmissä.

Ensimmäisen kokeen tarkoituksena on tarkastella nanokuplien vaikutusta *Enterococcus faecalis*-bakteerin määriin vesinäytteessä. Työssä käytettiin nanokuplageneraattoria, jonka läpi pumpattiin tutkimuksen kohteena ollutta IV-vesinäytettä, joka sisälsi tunnetun pitoisuuden bakteeria. *E. faecalis*-bakteerista tehtiin ensin pitoisuuden määrittäminen spektrofotometrisesti. Menetelmässä määritetään suspension absorbanssi UV/VIS-spektrofotometrillä ja verrataan sitä viljelytulokseen. Tarkempi selostus menetelmän laskemisesta löytyy liitteestä 2.

Koemenetelmänä oli hydrodynaamisella kavitaatiolla käsitellyn vesinäytteen suodatus membraanikalvoille, joita inkuboitiin maljoilla. Maljoilta luettava tulos lasketaan 100

ml:aa vesinäytettä kohden. Jotta tulos olisi luettavissa suodatinpaperin päältä, tulisi tuloksen olla < 200 pmy/100 ml. Tässä koejärjestelyssä vesinäytteen bakteeripitoisuudeksi haluttiin kuitenkin 1000 pmy/100 ml, tällä pyrittiin poistamaan koejärjestelyn epävarmuuksia. Koesarjan kahdessa ensimmäisessä kokeessa näytteestä tehtiin laimentamattoman näytteen lisäksi kymmenkertainen laimennos, jotta voitiin tarkastella tulosten perusteella sopivaa näytteen pitoisuutta ja mahdollisesti säätää sitä seuraaviin kokeisiin. Tulosten odotettiin mahdollisesti myös pienenevän kokeen kuluessa nanokuplien vaikutuksesta, jolloin pitoisuuden pitäisi olla riittävä myös koesarjan viimeisiin näytteisiin.

Laitteisto huuhdeltiin ensin antaen noin 1 l IV-vettä virrata laitteen läpi ja 10 l näytevesikanisteri liitettiin sisään- ja ulostuloletkuihin tämän jälkeen. Pumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 1 mukaiset, jolloin 10 l virtaa SIO:n läpi n. 5 min 35 s. Kokeen suunnittelussa todettiin 6 min olevan riittävä aika, jolloin kaikki kanisterissa ollut vesi on kiertänyt SIO:n läpi. Näytteistä mitattiin myös pH, johtokyky sekä lämpötila. Näytteitä otettiin 12 kpl eri ajankohtina ja ne suodatettiin 47 mm Thermo Scientific ruudukoiduille membraanikalvoille, joiden huokoskoko on $0,45 \mu\text{m}$. Maljoina käytettiin enterokokeille selektiivisiä Slanetz and Bartley agareita ja ne inkuboitettiin kaksi vuorokautta $+36^\circ\text{C}$:een lämpötilassa. Maljat tarkasteltiin ja laskettiin kahden vuorokauden kuluttua pesäkelaskurilla. Näytteiden käsittelyajat ja mitatut suureet on lueteltu liitteen 2 taulukossa 2.

Koejärjestelyä muutettiin ensimmäisen kokeen tulosten perusteella seuraavaan kokeeseen 2, jotta alkuperäisen näytteen bakteerikonsentraatio olisi pienempi. Pesäkeluvut olisivat tällöin luettavampia, jolloin voitaisiin erottaa ehkä pienetkin muutokset pesäkemäärissä. Koejärjestelyä muutettiin niin, että näytteen bakteeripitoisuus olisi 300 pmy/ml. Pitoisuuden määrittämiseen käytettiin samaa aiemmin tehtyä suoran yhtälöä, jonka laskutapa löytyy liitteestä 2. Näytevesi myös ilmastettiin kymmenen minuutin ajan ennen bakteerien lisäämistä, jotta vesi olisi ylikylläistä hapesta. Pumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 2 mukaiset. Näytteitä otettiin hieman pienemmillä väliajoilla. Näytteiden käsittelyajat ja mitatut suureet on lueteltu liitteen 2 taulukossa 4.

Legionella pneumophila-kokeen alkuasetelma oli erilainen edellisiin *E. faecalis*-kokeisiin verrattuna, sillä *L. pneumophila*-bakteeria oli todettu SIO-koelaitteiston läpi

ajetuissa näytteissä jo aikaisemmissa, opinnäytetyöhön liittymättömissä kokeissa ja tulosten perusteella arveltiin SIO-laitteiston saastuneen *Legionella*-bakteerilla. Tämän kokeen tarkoituksena oli tutkia, väheneekö *Legionella*-bakteerin pitoisuudet ajettaessa näytettä pitkään kontaminoituneen SIO-laitteiston ja pumpun läpi. Aiemmat koejärjestelyt olivat kestäneet 20 minuuttia ja tässä kokeessa oli tarkoitus ajaa näytettä SIO-laitteen läpi viidestä kuuteen tuntia, riippuen koejärjestelyssä käytetyn pumpun kestävydestä.

Näytteenä käytettiin IV-vettä, josta otettiin nollanäyte ennen kokeen alkua. Laitteisto huuhdeltiin ensin antaen noin 1 l IV-vettä virrata laitteen läpi. Tämä huuhteluvesi ei ollut mukana mittauksissa, eikä kiertänyt näytevedessä. Pumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 2 mukaiset ja näyteastianä oli 10 l vesikanisteri. Näytteistä mitattiin myös lämpötila, pH ja johtokyky. Näytteitä (400 ml) otettiin yhdeksän kappaletta 300 minuutin SIO-käsittelyn ajan. Näytteiden käsittelyajat ja mitatut suureet on lueteltu liitteessä 2, taulukko 5.

Koe piti keskeyttää viidennen näytteen jälkeen 1 h 25 minuutin kohdalla, sillä pumppu ylikuumentui ja tehot hävisivät. Laitteisto jäähdytti 60 minuutin ajan, jonka jälkeen koetta jatkettiin normaalisti ja otettiin vielä neljä näytettä. Pumppu toimi normaalisti kokeen loppuun asti. Näytteet käsiteltiin IDEXX Legiolert-menetelmällä välittömästi näytteenoton jälkeen ja ne inkuboitettiin lämpökaapissa +39°C lämpötilassa, 60 %:n kosteudessa seitsemän vuorokautta. Inkubointiajan jälkeen liuskat luettiin ja niistä laskettiin MPN-luku/100 ml:a kohden.

4.5 Raudan hapettumisen kokeellinen osuus

Työn tarkoituksena on tarkastella rauta(II)sulfaattiheptahydraatin ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) sisältämän Fe^{2+} :n hapettumista Fe^{3+} :ksi hydrodynaamisen kavitaation tuottamien nanokuplien avulla. Kahdenarvoinen rauta-ioni hapettuu normaalioloissa kolmenarvoiseksi hapen läsnä ollessa, mutta nanokuplien avulla se voi hapettua mahdollisesti nopeammin. Menetelmänä käytettiin spektrofotometristä mittausta nanokuplakäsittelystä rauta(II)sulfaattivesinäytteestä ja verrokkina käytettiin käsittelemättä rauta(II)sulfaattivesinäytettä. Näiden tuloksia verrattiin keskenään, jotta voitiin

nähdä nanokuplien vaikutus hapettumiseen. Suoritettiin neljä erillistä koetta, joissa koejärjestelyä muutettiin aiempien kokeiden tulosten perusteella, jotta löydettäisiin koejärjestely, jossa voidaan havaita nanokuplien hapetusvaikutusta.

Kahdessa ensimmäisessä kokeessa rauta(II)sulfaattiliuos haluttiin 0,01 molaariseksi, jolloin ainetta punnittiin 5,5604 g ja se liuotettiin IV-veteen 2 l mittapulloon. Näytettä otettiin 1000 ml SIO-käsittelyyn ja 250 ml verrokinäytteeksi. Näytteistä tehtiin ensin nollanäyte, jonka jälkeen SIO-näyte käsiteltiin hydrodynaamisella kavitaatiolla. Pumpun asetukset olivat ensimmäisessä kokeessa taulukon 1, tapa 1 mukaiset. Absorbanssin aallonpituudeksi valittiin 400 nm. Näytteen ja verrokin absorbanssit mitattiin peräkkäin. Verrokinäyte seiso i dekanterilasissa mittausten ajan, josta näyte otettiin. SIO-käsittelyajat on lueteltu liitteessä 3, taulukko 1.

Seuraavaan kokeeseen 2 tehtiin muutoksia verrokinäytteen käsittelyssä, näytteen määrässä ja mitatussa aallonpituudessa. Verrokinäyte kierrätettiin tässä koejärjestelyssä pumpun läpi, jossa ei ollut kavitaatiolaitetta ja näytemäärää kasvatettiin 10 litraan. Spektrofotometrillä mitattavaksi aallonpituudeksi valittiin 350 nm.

Molemmille näytteille oli kaksi samanlaista rinnakkain samaan virtalähteeseen kytkettyä pumpua. SIO-käsittelypumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 1 mukaiset. Verrokipumpun virtaama mitattiin, joka oli 4,8 l/min. Rauta(II)sulfaattiheptahydraattia punnittiin 27,802 g ja se liuotettiin IV-veteen 2 l mittapulloon. Tämä liuos lisättiin ensin kanisterissa olevaan kahdeksan litran IV-veteen, josta se jaettiin vielä kahteen eri kanisteriin, jolloin molemmissa kanistereissa oli 0,01 molaarista rauta(II)sulfaattiheptahydraattia viisi litraa.

Näytteistä tehtiin ensin nollanäyte, jonka jälkeen pumput käynnistettiin ja toinen näyte käsiteltiin hydrodynaamisella kavitaatiolla. Käsitellyn näytteen ja verrokinäytteen absorbanssit mitattiin peräkkäin. Absorbanssin aallonpituudeksi valittiin 350 nm. Käsitelyajat on lueteltu liitteessä 3, taulukko 2.

Koejärjestelyitä muutettiin seuraavaan kahteen kokeeseen 3 ja 4, koska haluttiin poistaa SIO-laitteiston hydrodynaamisen kavitaation vaikutus rautasulfaatin hapettumiseen ja lisätä rautasulfaatti liuenneessa muodossa vesinäytteisiin, jotka sisältävät eri

määrän nanokuplia. Niiden hapettumista tarkasteltiin spektrofotometrisellä mittauksella ajan funktiona. Mukana oli myös rautasulfaatin verrokinäyte (0-näyte), joka ei sisältänyt nanokuplia. Näytteistä mitattiin myös pH, lämpötila ja happipitoisuus. pH mitattiin samanaikaisesti kolmesta eri näytteestä, happipitoisuus ja lämpötila mitattiin samalla laitteella yksitellen kaikista näytteistä. Pumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 3 mukaiset.

Rautasulfaatin pitoisuus haluttiin nostaa pitoisuuteen 0,05 M, jotta mitatut absorbanssit olisivat korkeampia. Vesinäytteen tilavuus oli 5 litraa ja se käsiteltiin niin, että näytevesi oli kokonaisuudessaan kiertänyt SIO-laitteen läpi eri määrän kertoja, jolloin nanokuplien konsentraatio vesinäytteessä kasvoi käsittelyn edetessä. Vesinäytteitä otettiin muutamien minuuttien välein, jotka taulukoitu liitteessä 2, taulukko 3.

Näytettä otettiin tietyn näytteenottoajan kohdalla 190 ml:aa mittalasilla, josta se siirrettiin dekantterilasiin odottamaan käsittelyä. Kaikki vesinäytteet kerättiin ennen rautasulfaatin lisäystä. Kylläistä (0,921 M) rautasulfaattiliuosta lisättiin vesinäytteeseen 10 millilitraa, jolloin näytteen kokonaistilavuudeksi tuli 200 ml ja rautasulfaattipitoisuudeksi 0,046 M. Tämä oli suurin pitoisuus, joka saatiin näytteeseen ilman, että SIO-käsittelemätöntä rautasulfaatin sisältämää vettä ei tulisi näytteeseen liikaa. Näyteastioissa oli jatkuva magneettisekoitus ja välittömästi näytteiden sekoituttua, niistä mitattiin absorbanssi peräkkäin. Mitattavaksi aallonpituudeksi valittiin 320 nm. Mitatut absorbanssit lueteltu liitteessä 3, taulukko 4. Näytteistä mitattiin myös pH, lämpötila ja happipitoisuus muutamissa kohdissa. Näiden tulokset liitteessä 3, taulukoissa 5, 6 ja 7.

Kokeessa 4 muutettiin absorbanssin mittaajankohtaa ja vaihdettiin analyysissä käytettävää aallonpituutta, joka oli 380 nm. Muuten koe suoritettiin kuten koe 3. Mittausajankohdat ja mitatut suureet on taulukoitu liitteessä 3, taulukot 8, 9, 10 ja 11.

4.6 Kiehumispisteen ja lämpötilan nousun kokeellinen osuus

Tutkimuksen tarkoituksena on verrata hydrodynaamisella kavitaatiolla käsitellyn ionivaihdetun veden kiehumispistettä ja lämpötilan nousunopeutta normaaliin IV-veteen.

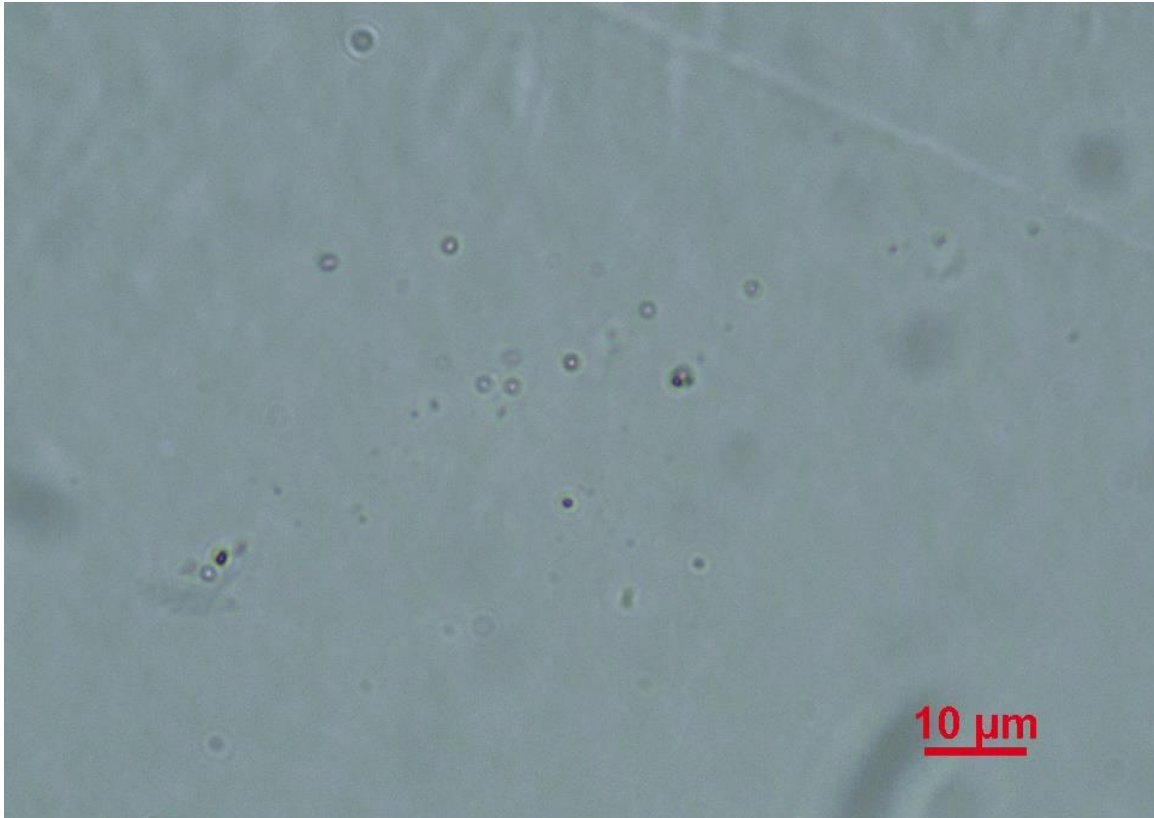
Kokeet toistettiin useaan kertaan, jotta saataisiin enemmän dataa ja keskiarvoihin perustuva tarkastelu olisi luotettavampi. Työssä käytettiin termostaatilla varustettua keittolevyä ja lämpötilamittaukseen käytettiin koetta varten rakennettua testilaitteistoa. Näytteenä käytettiin IV-vettä, jota kierrätettiin 20 minuuttia nanokuplageneraattorin läpi. Nanokuplavettä verrattiin verrokkiin, joka oli käsittelemätöntä IV-vettä. SIO-käsitelty IV-vesi ilmastettiin kuplittamalla ensin noin 1 tunnin ajan, jotta vesi olisi ylikylläistä hapesta. Pumpun asetukset olivat taulukon 1, tapa 1 mukaiset. Näytteet mitattiin eri päivinä samalla dekantterilasilla, jotta astian vaikutus olisi mahdollisimman pieni. Keittolevy jäähdyi myös vähintään vuorokauden ajan normaaliin huoneenlämpötilaan kokeiden välillä.

Mittaus aloitettiin kääntämällä keittolevy MAX-asentoon, jossa se oli koko kokeen ajan. Mittauslaitteisto mittasi lämpötilaa 20 sekunnin välein. Kun vesi kiehui ja lämpötila ei enää noussut, levy otettiin näyteastian alta pois ja siirrettiin sivuun. Statiivissa ollut lämpötila-anturi laskettiin joka kokeessa takaisin samalle tasolle näyteastiaan mittauksen jatkuessa koko ajan. Mittausta jatkettiin, kunnes vesi oli jäähtynyt noin 40°C:een. Ilmanpaine mitattiin jokaisen kokeen aikana ilmanpainemittarilla. Kokeita tehtiin molemmista viisi kertaa, eli kymmenen mittauskertaa ja tulokset ladattiin Excel-taulukoon. Mittaukset olivat hyvin toistettavissa. Mittaustuloksista analysoitiin kiehumispisteen lisäksi lämpötilan nousunopeutta ajan funktiona. Liitteessä 4, taulukossa 1 on esitetty mittausten tarkempia arvoja.

5 TULOKSET

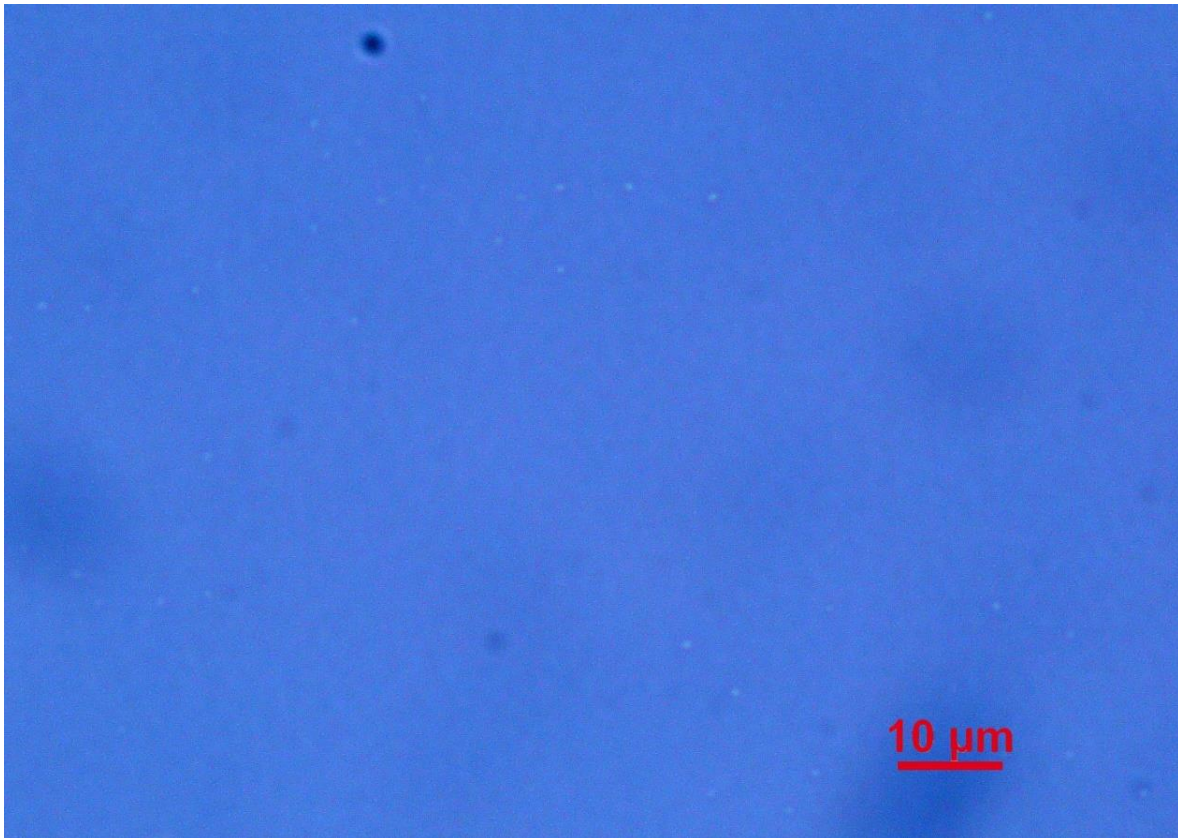
5.1 Nanokuplien kuvaus

Kokeen tarkoituksena on osoittaa, että hydrodynaamisen kavitaation avulla veteen saadaan nanokokoluokan ilmakuplia. Ensimmäisen kokeen näytteistä ei ensin löytynyt mitään, mutta näytteiden ollessa noin kolme tuntia pöydällä, saatiin seuraava kuva 4 otettua.



Kuva 1. Käsittelemätön kuva mikroskoopin kamerasta. Kyvetin hydrofobiseen muovipintaan oli kiinnittynyt mahdollisesti kuplia. Kuvassa näkyy mahdollisten kuplien lisäksi nanokoon likahiukkasia. Pyöreät partikkelit, joilla on vaalea keskusta ovat todennäköisesti kaasukuplia, kun taas tummat, epäsäännöllisen muotoiset partikkelit ovat todennäköisesti kiinteitä partikkeleita.

Toisen kokeen aikana otetussa kuvassa 5 näkyy mahdollisia nanokuplia. Kokeita tehtiin samalla tavoin useita, mutta vain ensimmäisestä näytteestä saatiin nanokuplia näkyviin. Muista tehdyistä koesarjoista ei saatu nanokuplia näkyviin.

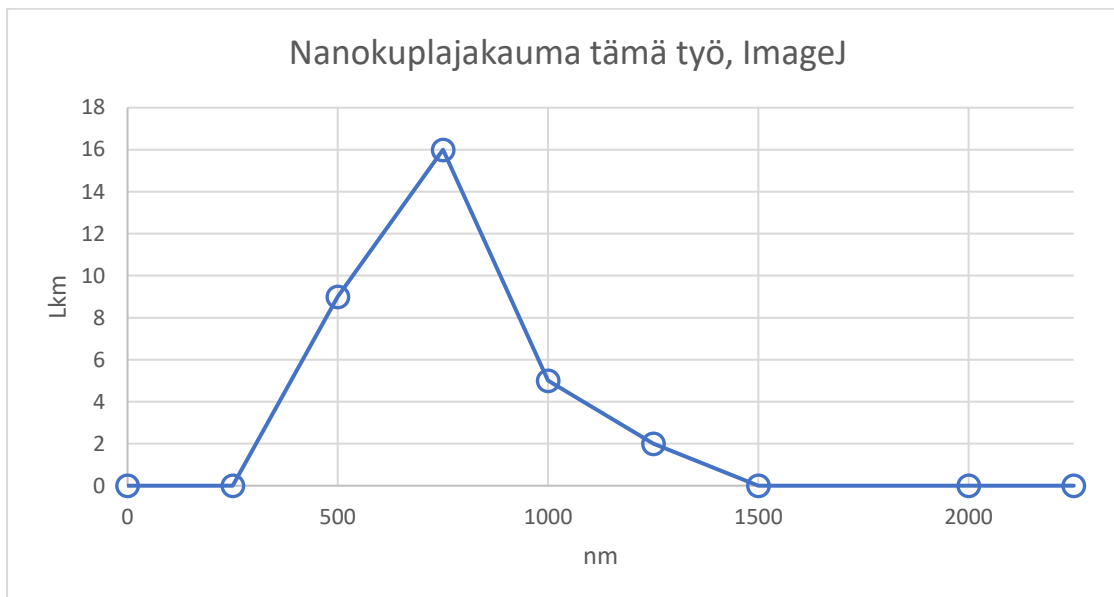


Kuva 2. Kuva mahdollisista nanokuplista. Kuvassa näkyvä kuplat ovat pyöreitä ja niiden keskusta on kuvan taustaa kirkkaampi. Kuvan kontrastia on säädetty havaittavuuden lisäämiseksi. Kuvan tummat alueet ovat todennäköisesti kameran linssin epäpuhtauksia.

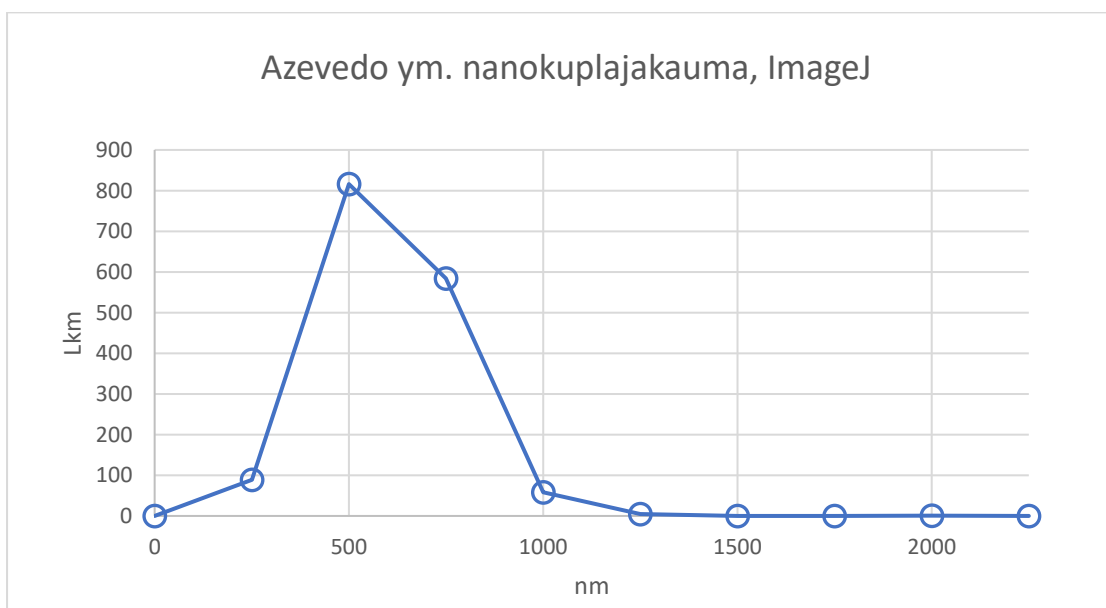
Nanokuplien kuvaus osoittautui haastavaksi, useiden yritysten ja parametrien muutosten jälkeen kuplia saatiin mahdollisesti näkyviin vain kahdella erillisellä kerralla. Jälkimmäinen kuva 5 analysoitiin ImageJ-ohjelmassa (Schneider ym., 2012). Ohjelma tunnisti ja mittasi kuplien koon tunnistamiensa alueiden perusteella automaattisesti. Vertailtavuuden varmistamiseksi Azevedon ym. (2016) esittämä kuva käsiteltiin samalla menetelmällä kuin tämän työn aineisto. Kuva-analyysi on selostettu liitteessä 1.

Laskettaessa kuplan kokoa ImageJ:n analyze particle-toiminnolla, kuvattujen kuplien keskimääräiseksi halkaisijaksi saatiin 620 nm. Azevedo ym. (2016) tutkimuksen kuvasta ImageJ laski kuplien keskimääräiseksi halkaisijaksi 481 nm, joka on pienempi kuin tutkimuksessa saatu kuplien keskimääräinen koko, joka oli 530 nm. Tiedossa ei ole mihin mittaperusteeseen tutkimuksessa laskettu keskimääräinen kuplakoko viittaa, esim. lukumäärään, pinta-alaan vai tilavuuteen. Seuraavassa kuviossa 3 esitetään

tässä työssä saatu kuplien jakauma ImageJ:n laskemana. Kuviossa 4 Azevedo ym. (2016) kuvan kuplien jakauma ImageJ:n laskemana tässä työssä.



Kuvio 3. Kuplien jakauma ImageJ:n laskemana. Kuplakonsentraatio on hyvin pieni.



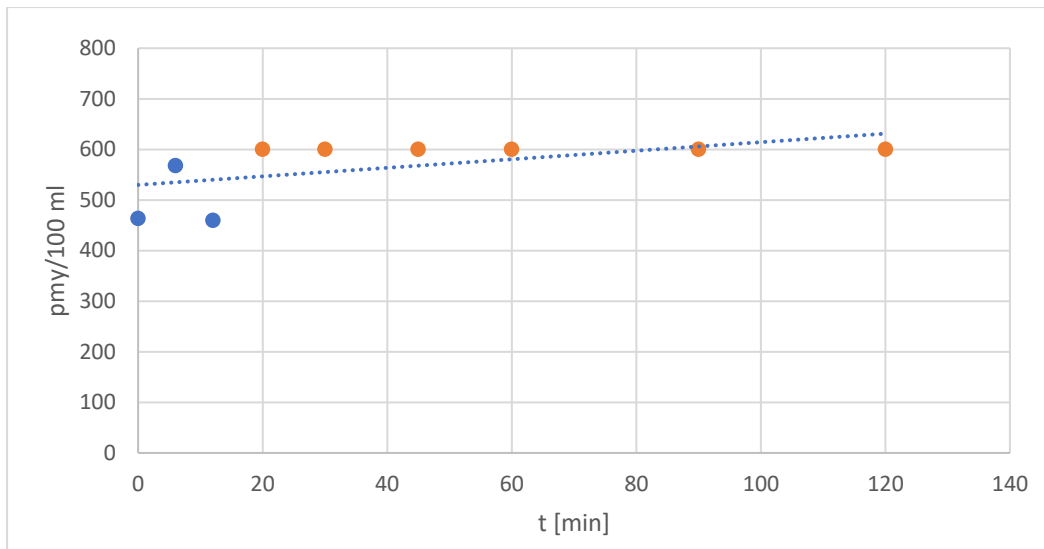
Kuvio 4. Azevedo ym. (2016) kuplien jakauma ImageJ:n laskemana tässä työssä. Kuplakonsentraatio on suuri.

Optisen mikroskoopin erotuskyky parhaimmillaan on noin 220 nm (Davidson, n.d.) ja kuvien resoluutio (25,5969 px/ μm) rajoittavat pienten kuplien havainnointia. Pienikokoiset kuplat sisältävät vain muutamia pikseleitä, mikä lisää analyysin epätarkkuutta ja virhemarginaalia. SIO-laitteen valmistajan mukaan laite tuottaa nanokuplia

keskimäärin koossa 85 nm (SIO Nanobubble, 2023a), joka on siis optisen mikroskoopin resoluutorajan ulkopuolella. Azevedon ym. (2016) kuvasta mitatut kuplakoot olivat samansuuntaisia tämän työn tulosten kanssa. Tämä osoittaa, että menetelmä kykenee tunnistamaan nanokokoisia kuplia, mutta tämän työn näytteissä alle 1 µm:n kokoisia kuplia havaittiin vain vähäisiä määriä. Tämä voi johtua siitä, ettei kuvan kontrasti riittä erottamaan kuplia taustasta. Näytteessä on mahdollisesti runsaasti hyvin pienikokoisia nanokuplia valmistajan määrittelyn mukaan, mutta niiden olemassaoloa ei pystytty varmistamaan. On myös mahdollista, että kuplat hävisivät näytteestä ennen kuin kuva saatiin näkyville. Tähän viittäisi se, että kuplia saatiin näkyviin vain kahdella erillisellä kerralla useista yrityksistä (n. 30 kpl) huolimatta. Lisäksi analyysi perustui vain yhteen mikroskooppikuvaan, mikä lisää tulosten epävarmuutta.

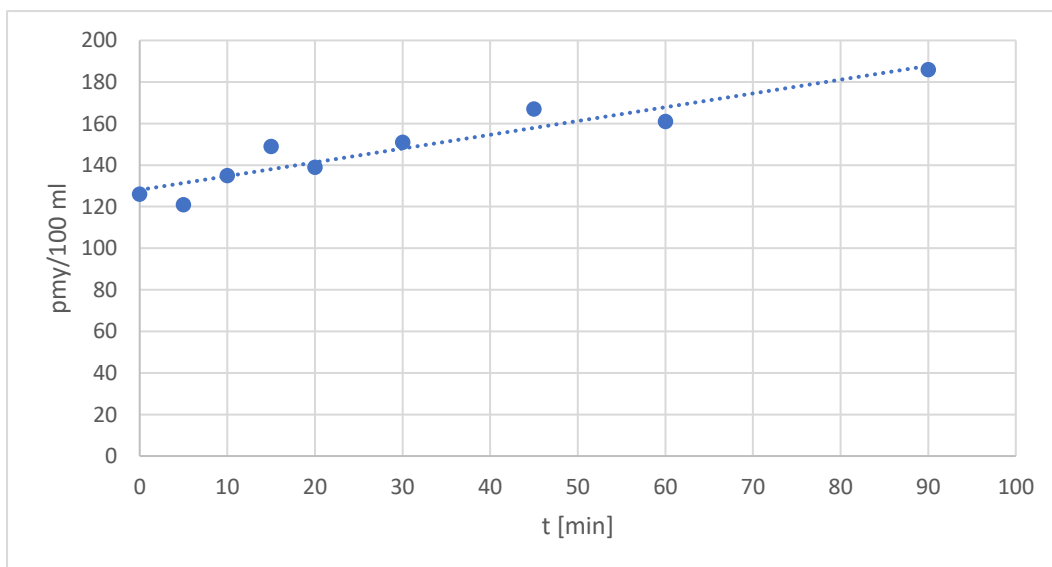
5.2 Bakterisidinen vaikutus

Ensimmäisen *Enterococcus faecalis*-bakteerikokeen tulokset ovat kuvattu kuviossa 5. Tulokset ovat listattu taulukkomuotoisena liitteessä 2, taulukossa 2. Tuloksista voidaan todeta, että alkuperäisen laimennoksen konsentraatio oli liian suuri, sillä laimentamattomilla maljoilla oli liian paljon pesäkkeitä. Laskenta tehtiin sektorilla ja lasketut tulokset olivat epätarkkoja. Kymmenkertaisella laimennoksella (näytteet 2 ja 4) pesäkkeet olivat vielä hyvin luettavissa. Kuva maljoista löytyy liitteestä 2, kuva 1. Kuviossa 5 nähdään, että 20 minuutin kohdalla pesäkkeiden lukumäärä kasvoi hieman (merkitty oranssilla), jolloin maljat eivät olleet enää luettavissa edes sektorilla. Määrä ei kuitenkaan muuttunut merkittävästi aiempiin verrattuna ja ne pysyttelivät samansuuruisina.



Kuvio 5. *Enterococcus faecalis*-pitoisuus SIO-käsittelyajan funktiona, koe 1. Maljojen tulokset, joita ei voinut enää lukea, on merkitty kuvioon oransseilla pisteillä. Suoran sovitus kuvaa trendiviivaa. Kuvioista 5 on poistettu 10 ml:n näytteet 2 ja 4 (kymmenkertaiset laimennokset), jotta taulukko on luettavissa.

Toisen kokeen tulokset olivat hyvin luettavissa ja samansuuntaisia kuin edellisessä kokeessa. Kuviossa 6 on esitetty enterokokkien määrä SIO-käsittelyajan funktiona, josta voidaan todeta bakteeripitoisuuden pysyttelevän melko tasaisena. Tulokset ovat listattu taulukkomuotoisena liitteessä 2, taulukossa 4 ja kuvat maljoista, kuva 2. Bakteeripitoisuus pysytteli samalla tasolla kokeen ajan, nousten hienoisesti kokeen edessä, joka voi selittyä normaalilla mittausvaihtelulla.

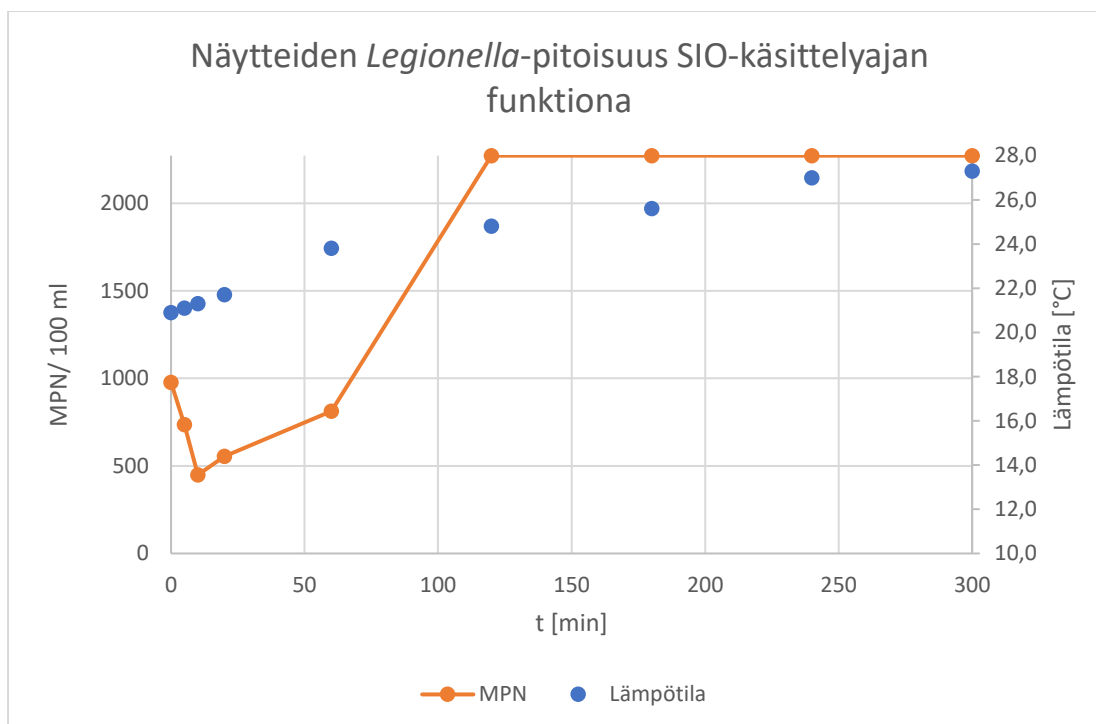


Kuvio 6. *Enterococcus faecalis*-pitoisuus SIO-käsittelyajan funktiona, koe 2. Suoran sovitus kuvaa trendiviivaa. Kuvioista 6 on poistettu 10 ml:n näytteet 2 ja 4 (kymmenkertaiset laimennokset), jotta kuvio on luettavissa.

Enterococcus faecalis -bakteerikokeiden tulokset olivat yhteneväiset, bakteeripitoisuuksissa ei ollut havaittavaa laskua alkutilanteen välillä, kuten kuvioista 5 ja 6 voidaan todeta. Tähän on saattanut vaikuttaa nanokuplien vähäinen määrä näytteissä tai niiden nopea häviäminen liuoksesta, jolloin niiden vaikutukset ovat pieniä. Ilmananokuplilla on myös useassa tutkimuksessa todettu olevan vähäinen tai ei lainkaan vaikutusta bakteerien vähenemiseen. (Mokudai ym., 2024; Ninomiya & Hosoi, 2025). Sen sijaan vaikutus biofilmeihin voi olla merkittävämpi, sillä kuplat saattavat tunkeutua biofilmirakenteen sisään irrottaen sitä. Tässä kokeessa ei tutkittu vaikutusta biofilmiin, vaan vedessä oleviin bakteereihin.

Kokeissa näytteiden pH-arvot olivat vain hieman happamia (~pH 6, liite 2, taulukot 2 ja 4). Näytteen ollessa vain hieman hapan, kuplien on todettu tuottavan vähemmän hydroksyyli-radikaaleja, kuin selvästi happamassa tai emäksisessä ympäristössä. (Wang ym., 2018). Tällöin soluja hajottavia radikaaleja on mahdollisesti liian vähän liuoksessa tuottaakseen desinfiointivaikutusta. Ogata & Murata (2022) totesivat tutkimuksessaan, ettei ilmananokuplilla ollut desinfiointivaikutusta neutraalissa tai emäksisessä vedessä gram-negatiivista *E. coli*-bakteeria vastaan. Gram-positiivisen *Enterococcus faecalis*-bakteerin on todettu kestävän pH-arvojen muutosta poikkeuksellisen hyvin (Nakajo ym., 2006), ja tämä on mahdollisesti heikentänyt tehoa entisestään. Koska *E. faecalis* ei ole herkkä pH-muutoksille, sen desinfiointi edellyttää riittävän voimakasta vapaiden radikaalien vaikutusta kaikissa pH-olosuhteissa.

Legionella pneumophila-bakteerikokeen tulokset on esitetty SIO-käsittelyajan funktiona kuviossa 7. Tulokset taulukkomuotoisena, johon merkitty myös mitatut suureet löytyvät liitteestä 2, taulukko 5. Tuloksista voidaan nähdä, että ensimmäisen 10 minuutin ajan *Legionella*-pitoisuus laski ja lähti taas nousuun 20 minuutin kohdalla, pysyen korkealla kokeen loppuun asti. Näytteiden lämpötila nousi noin 6°C kokeen kuluessa pumpun lämmittäessä läpikulkevaa näytevirtaa. Viidennen ja kuudennen näytteen välissä 1 h 25 minuutin kohdalla koe piti keskeyttää, sillä pumppu ylikuumentui ja tehot hävisivät. Laitteisto jäähdytti 60 minuutin ajan, jonka jälkeen koetta jatkettiin normaalisti. Tuloksista voidaan nähdä *Legionella*-bakteerin runsas lisääntyminen tämän jälkeen.



Kuvio 7. Näytteiden *Legionella*-pitoisuus SIO-käsittelyajan funktiona. Siniset pisteet kuvaavat mitattuja lämpötiloja ja oranssit *Legionella*-pitoisuutta MPN/100 ml.

Legionella-kokeen tulokset olivat hämmentäviä. Bakteeripitoisuus ensin puolittui 10 min käsittelyn ajan, jonka jälkeen se lähti selvään nousuun. Pumpun ylikuumentamisen takia pidetyn tauon jälkeen bakteeripitoisuus oli noussut jo yli luettavan asteikon. *Legionella*-bakteeri ei lisääntynyt näin nopeasti, vaan sen inkubointiaika on 7-10 päivää. (SFS-EN ISO 11731:2017, 2017, s.12). Bakteeripitoisuuden nousun syyksi epäiltiin laitteiston sisälle syntyneitä *Legionella*-biofilmiä, joka ilmeisesti on pysynyt pumpun ja letkujen liittimissä sisällä elossa, siitä huolimatta, että pumppu on huuhdeltu, ajettu tyhjäksi ja se oli ollut noin kuukauden kuivillaan. Ensimmäisen 10 minuutin ajan nanokuplat mahdollisesti hajottivat vedessä olevia, biofilmistä irronneita bakteereita, jolloin bakteerien pitoisuus aleni puoleen. Kokeen edetessä nanokuplien konsentraation kasvu saattoi aiheuttaa pumpussa ja pinnoilla olevan biofilmin irtoamisen, jolloin bakteereita vapautui kiertoan enemmän ja bakteeripitoisuus nousi. Nanokuplien on todettu alentavan veden pintajännitystä ja tämä saattaa heikentää biofilmin ja sen kiinnittymispinnan välistä adheesiovoimaa. (Shiroodi ym., 2021) Tällöin bakteerien määrä kasvoi, eivätkä nanokuplat kyenneet enää hajottamaan lisääntyvää bakteerimäärää. Määrä kasvoi maltillisesti 60 minuutin kohdalle, jolloin on otettu viimeinen näyte ennen pumpun ylikuumentamista. Pumppu jäähdytti 60 minuuttia, jonka aikana lämmennyt vesi ja näytteessä olleet nanokuplat ovat mahdollisesti irrottaneet lisää biofilmiä

laitteistosta. Laitteiston uudelleenkäynnistymisen jälkeen irtonainen biofilmimassa on levinnyt koko näytteeseen, ja tämän jälkeen otetut näytteet sisälsivät suuren määrän *Legionellaa*. Koe siis mahdollisesti antoi viitteitä siitä, että nanokuplat voivat irrottaa biofilmiä pinnoilta erityisesti lämpötilan noston avulla. Näytteen lämpötila pumpun ylikuumetessa oli noin 24°C ja se oli noussut vain noin asteen verran pumpun uudelleen käynnistettäessä, mutta jos biofilmiä oli muodostunut erityisesti pumpun sisään, oli pumpun lämpötila selvästi korkeampi. On todettu, että 60°C:n lämpötila inaktivoi valtaosan (n. 90 %) *Legionelloista* kahdessa minuutissa. (The European Guidelines Working Group, 2017, s.111). Pumpun lämpötilaa ei mitattu, mutta se oli kädelle koskettaessa kuuma. Lämpötila ei ehkä riittänyt tappamaan bakteeria, tai se pysyi biofilmin suojassa paremmin hengissä.

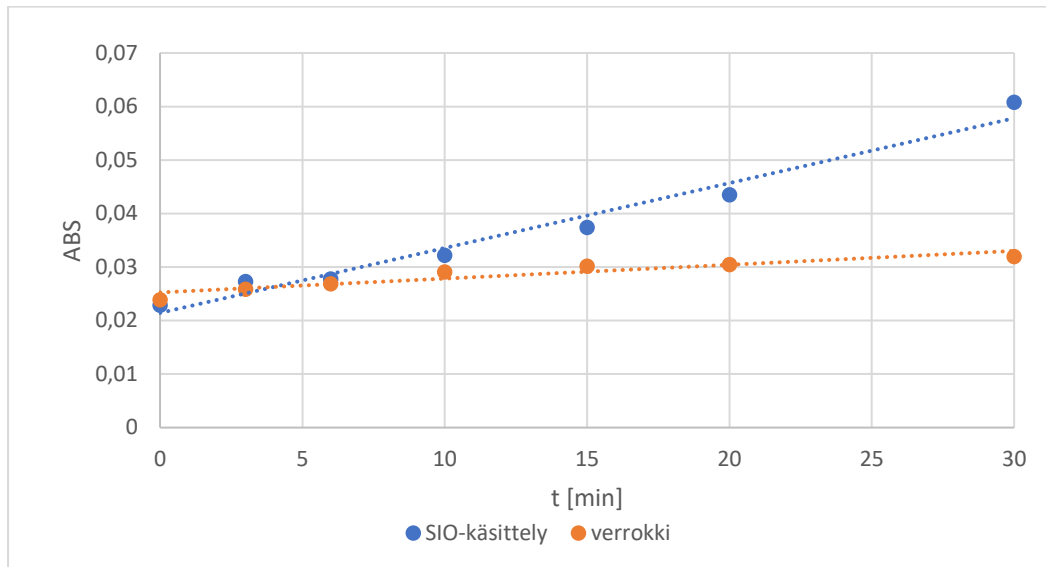
Alun 10 minuutin ajan bakteerien määrä väheni, joka voisi antaa viitteitä nanokuplien desinfiointivaikutuksesta *Legionellaa* vastaan, silloin, kun bakteeripitoisuus on pieni ja mukana on dynaaminen ärsyke, tässä tapauksessa hydrodynaaminen kavitaatio. Kavitaatiossa syntyvät kuplat romahtavat voimakkaasti muodostaen reaktiivisia vapaita radikaaleja. Näytteiden pH pysytteli neutraalin tuntumassa (liite 2, taulukko 5), jossa kuplien on todettu tuottavan vähemmän hydroksyyli-radikaaleja, kuin selvästi happamassa tai emäksisessä ympäristössä. Tämä oli mahdollisesti rajoittava tekijä desinfiointitehossa bakteerimäärän kasvaessa biofilmin irrotessa.

Nanokuplien kyky nostaa liuoksen happipitoisuutta suuren aineensiirtokapasiteetin avulla saattaa tuottaa aerobisille bakteereille suotuisat olosuhteet. Tämä on ristiriidassa niiden bakterisidisen vaikutuksen kanssa, kuten Wang T. ym. (2024) tutkimuskatsauksessaan toteavat. Tämä voisi myös selittää bakteerien kasvun kokeen loppua kohden, sillä veteen on liennut enemmän happea bakteerien käytettäväksi.

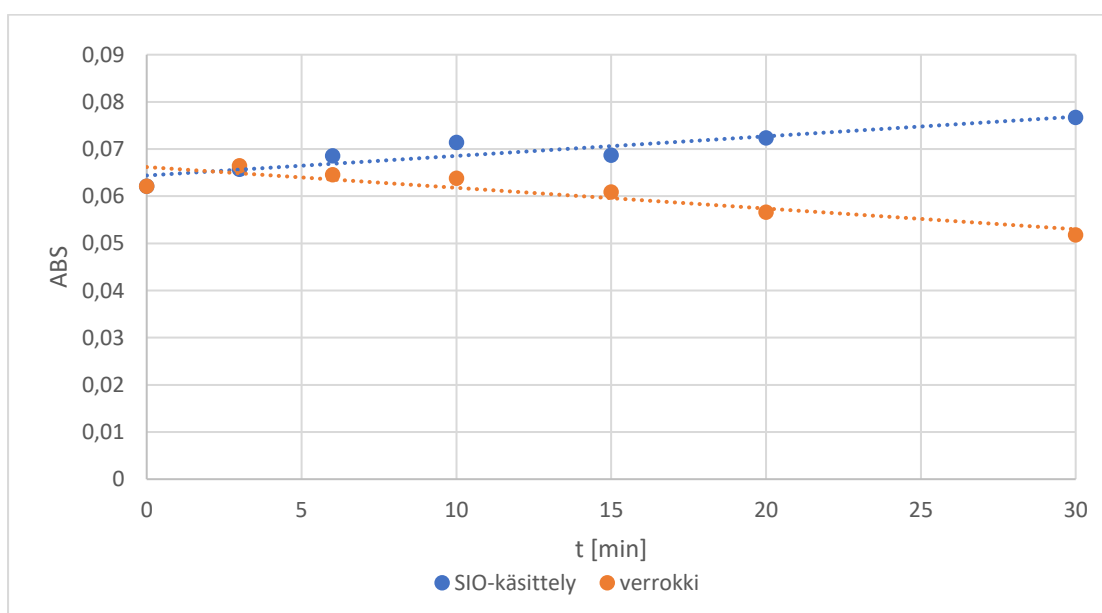
5.3 Raudan hapettuminen

Raudan hapettumista nanokuplien avulla tarkasteltiin spektrofotometrisesti neljässä erillisessä kokeessa. Kuvioissa 8 ja 9 esitetään näytteiden mitatut absorbanssit ajan

funktiona kokeissa 1 ja 2. Mitatut absorbanssit löytyvät taulukkomuotoisena liitteestä 3, taulukot 1 ja 2. Nanokuplakäsittelyn rautasulfaattiliuoksen absorbanssit antoivat viitteitä nanokuplien vaikutuksesta verrokinäytteeseen verrattuna, kun mukana oli dynaaminen ärsyke, eli hydrodynaaminen kavitaatio. Mikä vaikutus nanokuplilla näissä kokeissa oli, ei täysin selvinnyt, sillä näytteiden mitatut aallonpituudet eivät ehkä havainneet Fe^{3+} -pitoisuutta.

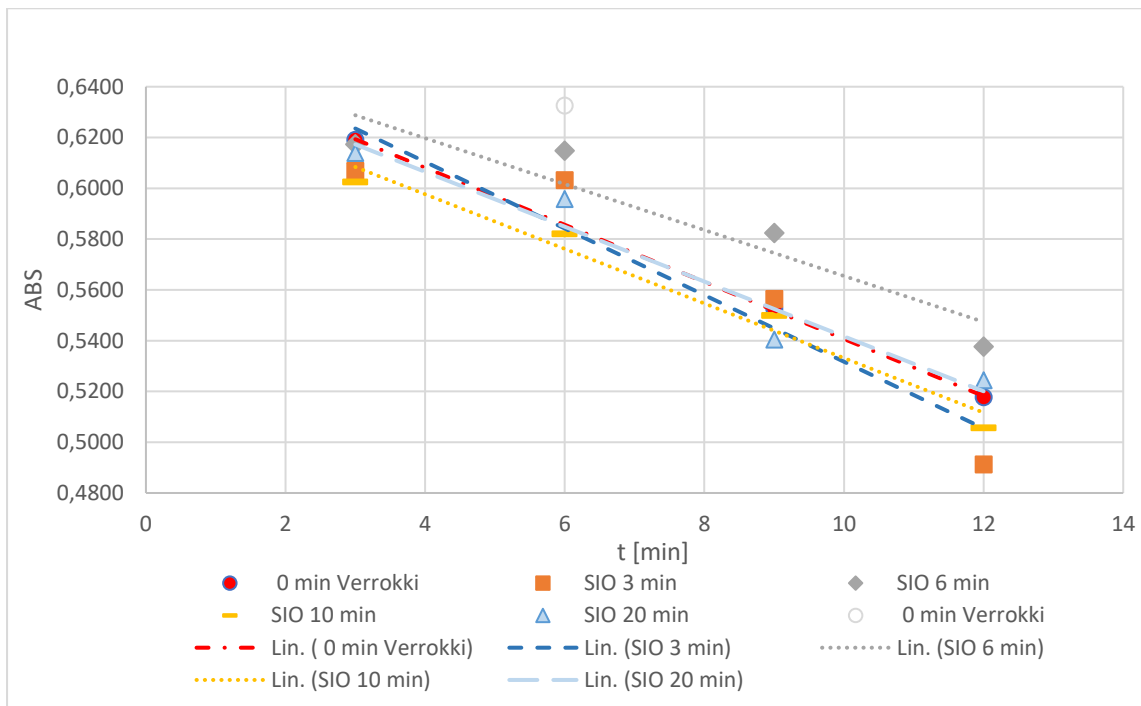


Kuvio 1. Koe 1. Mitatut absorbanssit $\lambda=400$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä käsiteltiin kierrättämällä sitä SIO-laitteiston läpi. SIO-käsittely näyte $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=1,87$ l/min. Verrokki $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=0,0$ l/min.

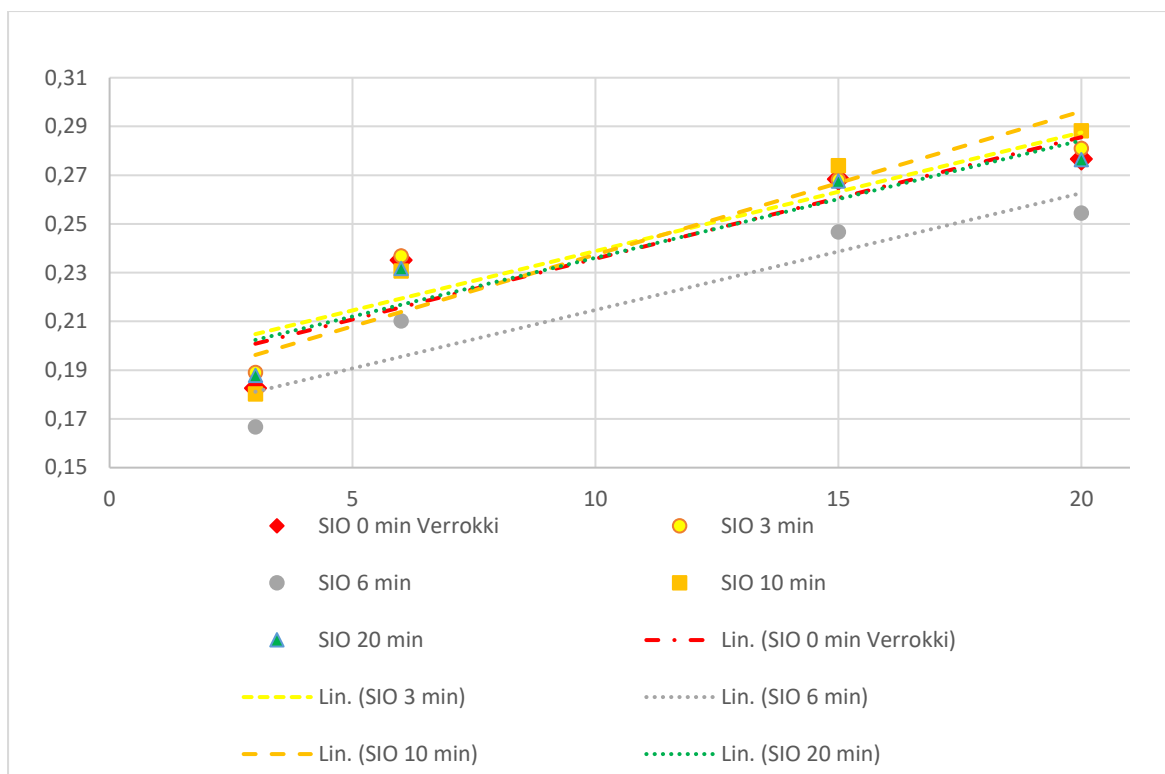


Kuvio 2. Koe 2. Mitatut absorbanssit $\lambda=350$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä käsiteltiin kierrättämällä sitä SIO-laitteiston läpi, verrokin kiertäessä ilman SIO-laitetta. SIO-käsitelty näyte $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=1,87$ l/min. Verrokki $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=4,80$ l/min.

Kuvioissa 10 ja 11 esitetään näytteiden mitatut absorbanssit ajan funktiona kokeissa 3 ja 4. Mitatut absorbanssit löytyvät taulukkomuotoisena liitteestä 3, taulukot 4 ja 8. Näissä eri kuplakonsentraation vaikutusta seurattiin ajan funktiona. Kun dynaaminen ärsyke puuttui näissä kokeissa, vaikutusta ei havaittu verrokkiin verrattaessa. Tuloksista haluttiin nähdä eroavatko tulokset trendiviivan suunnassa. Kuvioista 10 ja 11 voidaan havaita tulosten yhteneväinen suunta, joka vahvistaa aiemman tuloksen ei havaituista vaikutuksista.



Kuvio 10. Koe 3. Mitatut absorbanssit $\lambda=320$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä lisättiin eri nanokuplakonsentraatioissa oleviin liuoksiin. Veden SIO-käsittely $V=2,74$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$. Verrokki $V=0,0$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$. Tulokset kuvattu trendiviivoin. Tuloksista poistettiin yksi poikkeava mittaus, jossa absorbanssi nousi, jotta trendisuunta olisi luettavampi. Tämä merkitty harmaalla pallolla.



Kuvio 11. Koe 4. Mitatut absorbanssit $\lambda=380$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä lisättiin nanokuplia eri konsentraatioissa oleviin liuoksiin. Veden SIO-käsittely $V=2,74$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$. Verrokki $V=0,0$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$.

Lambert-Beerin lain mukaan läpi pääsevän valon voimakkuus pienenee absorboivan aineen määrän kasvaessa. Absorbanssien siis pitäisi laskea kahdenarvoisen raudan hapettua kolmenarvoiseksi, olettaen, että kolmenarvoinen rauta absorboi mitatuilla aallonpituuksilla. Spektrofotometriseen mittaukseen valitut aallonpituudet olivat 400 nm, 350 nm, 320 nm ja 380 nm. Näistä vain 320 nm on alueella, jolla kolmenarvoinen rauta absorboi valoa. (Turner & Miles, 1957)

Näytteiden pH pysyi vakiona sen olleessa mitatuissa kokeissa matala, pH 3,5 (liite 3, taulukot 5 ja 9), jolloin raudan hapetusnopeus on erittäin hidas. (Sharma, 2001, s. 13). Nanokuplat ovat myös epästabiilimpia matalassa pH:ssa, sillä niiden negatiivinen pintavaraus heikkenee pH:n laskiessa, jolloin kuplat suurenevät ja ne voivat hävitä liuoksesta. Alle pH 4:n arvoissa kuplien konsentraation onkin todettu laskevan voimakkaasti. Kuplien isoelektrinen piste sijoittuu pH-välille 3–3,5, jonka alapuolella niiden pintavaraus muuttuu positiiviseksi. Myös liuoksen ionit neutraloivat kuplan pintavaruuksia ja heikentävät kuplan kaksoiskerrosta, jolloin kuplan stabiilisuus heikkenee lisää. (Nirmalkar ym., 2018b) Radikaalien muodostus on todettu olevan suurempaa

matalassa pH:ssa, mutta jos kuplia on vain vähän liuoksessa, niiden vaikutus voi olla vähäinen. Sharman (2001, viitaten Sung & Morgan 1980) mukaan sulfaatti-ionin (SO_4^{2-}) on myös havaittu hidastavan Fe^{2+} -ionin hapettumista vesiliuoksessa. (Sharma, 2001, s. 16).

Näytteiden happipitoisuutta mitattiin vain kolmannessa ja neljännessä kokeessa (liite 3, taulukot 7 ja 11), jolloin happipitoisuudet nousivat loogisesti. Ne vaihtelivat välillä 6,77-8,92 mg/l alimman arvon ollessa IV-vettä, jota ei ollut käsitelty nanokuplilla ja korkein arvo oli pisimpään nanokuplakäsiteltyä vettä. Nanokuplakäsittelyt kestivät 3-20 minuuttia, joka ei ehkä ollut riittävä aika riittävään nanokuplakonsentraation muodostumiseen, tai happipitoisuus ei ollut riittävä tuottamaan tarpeeksi suurta kuplakonsentraatiota tässä ajassa. Näytteiden lämpötilat (liite 3, taulukot 6 ja 10) kasvoivat odotetusti kokeen kuluessa magneettisekoittajien lämmittäessä näytettä hieman.

Kehitysehdotuksia tutkimukselle olisi käsittelyaikojen kasvattaminen, jotta nanokuplakonsentraatio olisi korkeampi ja liuoksessa olisi enemmän myös liuennutta happea. Spektrofotometrinen aallonpituus mittauksessa saisi olla 320 nm tai lyhyempi, jotta Fe^{3+} -ioni voitaisiin havaita tarkemmin. Näytteiden pH:ta voisi säätää korkeammaksi ja tarkastella sen vaikutusta raudan hapettumiseen ja sen nopeuteen. Kokeet suoritettiin huoneenlämpötilassa, mutta lämpötilan nostolla saattaisi olla vaikutusta hapettumisen voimakkuuteen. Kokeet suoritettiin rautasulfaatilla, joka liuetessaan muodostaa sulfaatti-ionin vesiliuokseen ja tämä saattaa olla raudan hapettumista hidastava tekijä. Koe voitaisiin tehdä toisella rautayhdisteellä, jotta poistettaisiin sulfaatti-ionin vaikutus hapettumiseen. Staattinen koe ei näyttäisi näillä parametreilla tuovan muutosta raudan hapettumiseen verrokkiin verrattuna, mutta dynaamisen ärsykkeen olemassaolo saattaisi tuoda vaikutusta paremmin esille.

5.4 Veden kiehumispiste

Veden kiehumispistemittauksissa tulokset olivat hyvin toistettavissa. Kymmenen mitauskerran tulokset ladattiin Excel-taulukkoon. Taulukossa 2 on esitetty mitattujen

kiehumispisteiden keskiarvot. Mitatun ilmanpaineen avulla laskettiin kirjallisuusarvoihin perustuvien kiehumispisteiden erotuksien keskiarvot ja kiehumisen jälkeisen yhden tunnin mittaisen jäähtymisen keskiarvot. Kaikissa on näkyvissä pieni ero nanokuplaveden kiehuessa hieman aiemmin ja jäähtyen hitaammin, mutta erot ovat niin pieniä, että ne menevät mittauserätarkkuuden sisään. Kuviot näytteiden lämpötiloista ajan funktiona löytyy liitteestä 4, kuviot 1 ja 2.

Taulukko 2. SIO-käsitellyn IV-veden ja verrokin kiehumispisteen aleneman mittausten keskiarvot. Verrokki-kokeet tehtiin käsittelemättömällä IV-vedellä. Mitatut arvot liitteessä 4, taulukko 1.

Kiehumispiste, ($T_{b,m}$) keskiarvo

Verrokki (IV-vesi)	99,03 °C
SIO-käsittely	98,91 °C

Todellisen kiehumispisteen erotus, ($T_b - T_{b,m}$), keskiarvo

Verrokki (IV-vesi)	0,76 °C
SIO-käsittely	0,86 °C

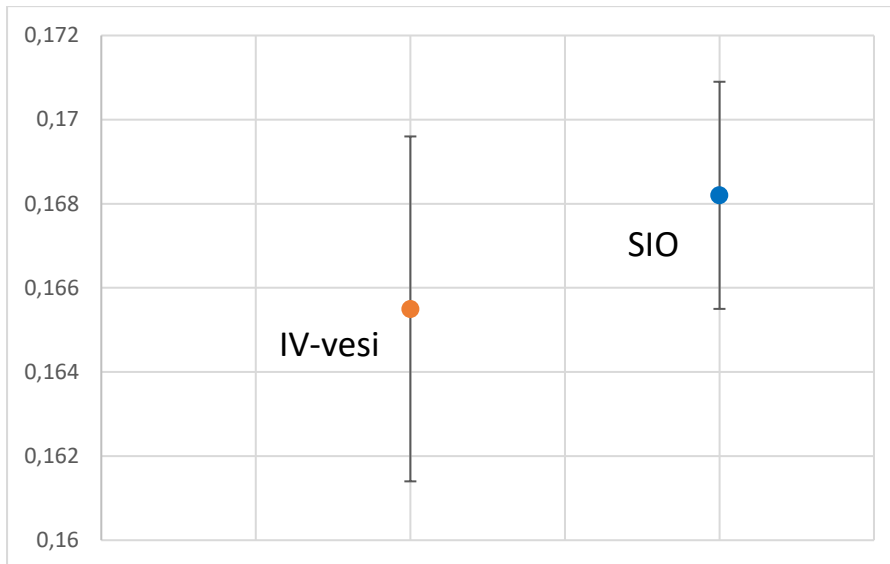
Jäähtyminen 1 h ajan, ($T_{b,m} - T(t=1h)$), keskiarvo

Verrokki (IV-vesi)	45,48 °C
SIO-käsittely	45,73 °C

Mittaustuloksista analysoitiin kiehumispisteen lisäksi lämpötilan nousunopeutta ajan funktiona. Faasinmuutos veden kiehumiseen tapahtuu ideaalitalanteessa lineaarisesti, mutta johtuen lämpöhäviöistä ja lämpövuosta, käyrä on s-mallinen. Tarkastelussa etsittiin mahdollisimman suora kohta käyrästä, josta laskettiin kulmakerroin. Regressioviivan selityskertoimen R^2 -arvot olivat välillä 0,9996-0,9998, joka vastasi n. 2 minuutin väliä lämpötilan nousussa. Mittaustuloksista analysoitiin suoran yhtälön kulmakertoimet, jotka kuvaavat tässä yhteydessä lämpötilan muutoksen nopeutta, eli kuinka nopeasti lämpötila nousee ajan kuluessa. Mitä suurempi kulmakerroin, sitä nopeammin lämpötila muuttuu.

Lämpötilan muutosnopeuksista laskettiin otoskeskiarvot ja niille 95 %:n luottamusväli Studentin t-jakaumaa käyttäen. Tarkemmat luvut on listattu liitteessä 4, taulukko 2. Koska kummastakin ryhmästä oli viisi mittausta, otoskoko oli pieni. Tuloksia tulkittaessa t-jakaumalla laskettu luottamusväli on normaalijakaumaa luotettavampi silloin,

kun mittaustuloksia on alle 30. (Taanila, 2019). Vaikka keskiarvoissa on eroa, tulevat luottamusvälit päällekkäin, jolloin IV-veden ja nanokuplaveden lämpötilojen nousussa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Kuviossa 12 kuvataan keskiarvon luottamusvälit Studentin t-jakaumalla.



Kuvio 12. Lämpötilan muutosnopeuden keskiarvot ja luottamusvälit Studentin t-jakaumalla laskien.

On useita tekijöitä, jotka voivat selittää, miksi mittauksissa ei havaittu eroja. Nanokuplat eivät mahdollisesti muuta veden kiehumispistettä, kuten Kosheleva ym. (2022) tutkimuksessaan myös totesivat. He ehdottivat, että nanokuplat toimisivat mahdollisesti nukleaatiopisteinä madaltaen kiehumisen energiankynnystä, mutta tätä vaikutusta ei saatu esille. Kuplia ei mahdollisesti muodostunut riittävästi, tai ne hävisivät nopeasti, jolloin ne eivät ehtineet vaikuttaa kiehumisprosessiin. Witharana ym. (2012) totesivat tutkimuksessaan klassisen teorian pitävän paikkansa, että alle 100 nm:n koloissa syntynyt kuplanukleaatio ei ole tehokasta, vaan kiehumiskynnys on voimakkaasti kohonnut. Vaikka nanokuplat eivät ole rakenteellisesti sama asia kuin pinnan kolot, molempien on ehdotettu voivan toimia kiehumisen nukleaatiopisteinä. Tutkimuksessa kolojen tuottamat kuplat olivat kooltaan vastaavia, kuin Micro SIO-nanokuplageneraattorilla tuotettujen nanokuplien keskimääräinen koko (85 nm). Näin ollen kolojen muodostamien kuplien ja nanokuplien roolit kiehumisnukleaatiossa saattavat olla keskenään verrattavissa.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä työssä kokeiltiin eri menetelmiä ilmananokuplien sekä niiden vaikutusten havaitsemiseksi. Nanokuplia muodostettiin veteen hydrodynaamisella kavitaatiolla ja veteen liuotettiin paineilmaa. Muodostuneiden nanokuplien havainnointiin käytettiin mikroskooppia. Tarkastellessa raportin kokeiden tuloksia, voidaan havaita vain vähäisiä nanokuplien vaikutuksia näillä menetelmillä. Koejärjestelyitä pitäisi toistaa, jotta voitaisiin nähdä, ovatko vaikutukset toistettavissa. On mahdollista, että nanokuplia ei muodostunut näytteisiin riittävästi, tai ne olivat epästabiileja kokeissa käytetyissä olosuhteissa, jolloin niiden havainnointi on vaikeaa. Kuplakonsentraatioon on saattanut vaikuttaa nanokuplien lyhyt säilyvyys näytteissä. Ilmananokuplien on joissakin tutkimuksissa todettu olevan heikommin säilyviä, kuin esimerkiksi happinanokuplat. (Ushikubo ym., 2010a). Tähän syynä on ilmananokuplien pienempi zeta-potentiaali kuplan rajapinnalla, jolloin kupla ei ole yhtä stabiili. Tämä voi aiheuttaa kuplan koalesoitumisen tai liukenemisen nesteessä. Kuvauksen haasteiden syynä saattoi olla Micro SIO-nanokuplageneraattorin valmistajan mukaan laitteen tuottama keskimääräinen nanokuplakoko, 85 nm, jolloin ollaan optisen mikroskoopin resoluution ulkopuolella. Tiedossa ei ole, millaisissa olosuhteissa keskimääräinen koko on mitattu, jolloin kuplat saattavat erilaisissa olosuhteissa liueta, tai koalesoitua suuremmiksi, jolloin ne nousevat pintaan ja lopulta häviävät ilmaan.

Kavitaatiossa kuplien äkillisesti romahtaessa syntyy erittäin korkeita paineita ja lämpötiloja, jolloin muodostuu vapaita happiradikaaleja. Nanokuplien taas on todettu olevan nesteessä stabiileja pitkiä aikoja, eivätkä ne tyypillisesti romahda ilman dynaamista ärsykettä samalla tavalla kuin kavitaatiokuplat. Nanokuplien kutistumisen loppuvaiheessa, ionien kerääntyessä kuplan pinnalle, kupla lopulta romahtaa tuottaen happiradikaaleja, mutta romahduksen vaikutus on heikko verrattuna voimakkaasti romahdaviin kavitaatiokupliin. Tämä saattoi olla rajoittava tekijä niiden kokeiden suorituksissa, joissa ei ollut dynaamista ärsykettä mukana.

Koeasetelmat suoritettiin muuttamatta näytteiden pH:ta, lukuun ottamatta nanokuplien kuvausta. Silloinkin pH säädettiin korkeimmillaan arvoon pH 7. Muissa kokeissa mitatut arvot olivat pH 3,5-6,5. Nanokuplien on todettu olevan negatiivisemmin

varautuneita emäksisissä pH-arvoissa, jolloin niiden stabiilisuus kasvaa. Silloin niiden koko myös pienenee, jolloin suhteellinen ominaispinta-ala kasvaa ja paine kuplan sisällä kasvaa. Tällöin ne romahtaessaan muodostavat suurempia leikkausvoimia ja lämpötiloja ja radikaalien muodostuminen kasvaa. Alhaisissa pH-arvoissa kuplien pinta-ala heikkenee ja muuttuu jopa positiiviseksi. Tämä heikentää kuplan stabiilisuutta ja alhaisissa pH-arvoissa on mitattu merkittävästi pienempiä kuplakonsentraatioita. (Meegoda ym., 2018) (Nirmalkar ym., 2018b) Hydroksyyli-radikaaleja on toisaalta todettu muodostuvan enemmän matalissa tai korkeissa pH-arvoissa. (Wang ym., 2018) Jos tässä työssä kuplakonsentraatio on ollut matala alhaisessa pH:ssa, on kuplien määrä ollut mahdollisesti niin alhainen, ettei hydroksyyli-radikaaleja ole juuri muodostunut.

Kehitysehdotuksena olisi toistaa koejärjestelyt siten, että näytteiden pH nostetaan normaalin vesijohtoveden tyyppilliseen yläraja-arvoon, eli pH arvoon 8-9. Lämpötiloja voisi myös korottaa talousveden lämpimän veden yläraja-arvoihin, eli 60°C-65°C. Tällöin olisi mahdollista selvittää, miten nanokuplat vaikuttavat vesijärjestelmissä näissä olosuhteissa.

Tämä tutkimus osoittaa, että nanokuplien tutkiminen sekä niiden vaikutusten tutkiminen on haastavaa. Tutkimus antaa myös viitteitä ilmananokuplien huonommasta soveltuvuudesta käytännön sovelluksiin, ja että jokin dynaaminen ärsyke mahdollisesti tarvitaan tehostamaan niiden vaikutusta. Jotta kuplien koon ja konsentraation merkitystä nanokuplien vaikutustehoon voitaisiin arvioida, olisi kuplien ominaisuuksia pysyttävä mittaamaan.

Tässä työssä käytettiin hydrodynamista kavitaatiota ja se on osoittautunut käytännölliseksi ja edulliseksi menetelmäksi nanokuplien tuottoon. Nanokuplateknologian haastavuus tulee esiin siinä, että ensin pitäisi ratkaista nanokuplien ominaisuuksien ennustettavuus, eli kuplakonsentraation ja kuplan koon tuoton tasalaatuisuus eri olosuhteissa, jotta menetelmiä voisi soveltaa eri ympäristöissä.

Opinnäytetyön tekeminen oli erittäin mielenkiintoinen ja haastava projekti. Mukaan valitun tutkimuskirjallisuuden määrä oli suuri, joiden läpikäyminen oli pitkä prosessi.

Erityisen haastavaa materiaalin läpikäymisessä oli se seikka, että tutkijat ovat monista yksityiskohdista eri mieltä tai havainnoitu löydös oli päinvastainen toisessa tutkimuksessa. Oli haastavaa löytää kirjallisuuden joukosta olennaisia tuloksia ja havaintoja, joita sisällyttää työhön ja joista kirjoittaa selkeästi. Mielenkiintoista oli tutustua tarkemmin eri ilmiöihin ja etsiä lisää tietoa asiasta.

Kokeellisen osuuden toteuttaminen oli mielenkiintoista ja työn aikana syntyi useita kehitysehdotuksia työn suorittamiseen. Opinnäytetyön kirjallinen osuus kehitti erityisesti kykyäni tiedonhakuun ja pitkäjänteiseen työskentelyyn. Opinnäytetyön tekeminen toi myös arvokasta oppia tieteellisestä kirjoittamisesta. Työn tekeminen oli palkitsevaa ja opin aihealueesta merkittävästi lisää tutustuessani laajaan aihetta käsittelevään kirjallisuuteen.

7 YHTEENVETO

Nanokuplat ovat kiinnostavia kaasun täyttämiä nanokoon kuplia, jotka pysyvät stabiileina vedessä jopa kuukausia siihen liukenematta tai nousematta pintaan. Niiden suuri ominaispinta-ala mahdollistaa tehokkaan aineensiirron, minkä seurauksena ne voivat merkittävästi lisätä nesteen kaasupitoisuutta. Dynaamisen ärsykkeen avulla kuplat romahtaessaan tuottavat hetkellisesti paikallisia äärimmäisiä paine- ja lämpötilamuutoksia, joiden avulla muodostuu reaktiivisia happilajeja. Nämä voimakkaat hapettimet kykenevät hajottamaan epäorgaanisia yhdisteitä, biofilmejä ja inaktivoimaan mikrobeja. Nanokuplat jaotellaan kahteen päätyyppiin, bulkkinanokupliin, jotka liikkuvat nesteessä satunnaisella Brownin liikkeellä ja pintananokupliin, jotka ovat kiinnittyneet johonkin pintaan.

Tiedemaailmassa nanokuplat ovat kiinnostaneet pitkään ja tutkimuksia nanokuplien ominaisuuksista ja tuottomenetelmistä on kertynyt runsaasti. Nanokuplien tutkimus on haastavaa, sillä niiden pieni koko asettaa haasteita tutkimusmenetelmiin. Tämä onkin johtanut siihen, että monessa tutkimuksessa havainnot ja tulokset ovat ristiriitaisia. Vastoin Epstein-Plessetin teoriaa, nanokuplat ovatkin pitkäkestoisia ja täyttä

yksimielisyyttä nanokuplien muodostumismekanismista ei ole, mutta joitakin teorioita on noussut yleisesti hyväksytyimmiksi. Pintaan kiinnittyneen nanokuplan on todettu säilyvän kontaktipinnan kiinnittymisvoiman avulla stabiilina ja nesteessä vapaasti liikuvan kuplan stabiilisuuden syyksi on ehdotettu kuplan negatiivisesti varautunutta rajapintaa, joka estää kuplan liukenemisen tai koalesoitumisen muiden kuplien kanssa.

Kuplan rajapinnan varausta kutsutaan zeta-potentiaaliksi ja varauksen on todettu olevan riippuvainen kuplan kaasun ominaisuuksista. Voimakas negatiivinen varaus edesauttaa kuplan säilymistä ja kuplan koko pienenee vastaavasti nostoen kuplan suhteellista ominaispinta-alaa samalla. Kuplan romahtaessa, nämä olosuhteet voimistavat vapaiden radikaalien muodostumista. Yleisin reaktiivinen happilaji on hydroksyyli- radikaali, joka on voimakkaasti hapettava hapen johdannainen. Voimakas negatiivinen zeta-potentiaali kuplan rajapinnalla houkuttelee nesteen positiivisesti varautuneita ioneja rajapinnalleen, jolloin kuplan adsorptio on suuri.

Kuplan ominaisuudet tekevät niistä houkuttelevan vaihtoehdon kemikaalittomaan teknologiaan. Kuplien romahtaessa nesteeseen ei jää jäämiä tai sivutuotteita, joten se on erityisen potentiaalinen vaihtoehto vihreään teknologiaan. Nanokuplia käytetäänkin jo usealla eri alalla, esimerkiksi jäteveden puhdistuksessa, mineraalien flotaatiotekniikassa, pienten vesistöjen hapetuksessa ja ultraäänikuvantamisen kontrastiaineena. Uusia tekniikoita kehitetään jatkuvasti lisää. Nanokuplien teknologian kehityksen haasteena on kuplien koon ja konsentraation hallinta, sillä nämä vaihtelevat suuresti eri tuottomenetelmien välillä. Osa menetelmistä tuottaa luotettavasti ja edullisesti nanokuplia, kuten hydrodynaaminen kavitaatio, mutta kuplien kokoa voi olla vaikea hallita. Osa menetelmistä tuottaa runsaasti kuplia, kuten akustinen kavitaatio, mutta tekniikan skaalaus on haastavaa teolliseen mittakaavaan. Osa menetelmistä tuottaa vain panostyypillisesti kuplia, kuten painemenetelmä tai hyvin pieniä määriä vain tiettyä kaasua, kuten elektrolyysimenetelmä.

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin, onko nanokuplilla bakterisidistä vaikutusta kahteen eri bakteeriin, mikä vaikutus nanokuplavedellä on raudan hapettumiseen ja laskeeko nanokuplat veden kiehumispistettä. Nanokuplien olemassaoloa pyrittiin myös todentamaan kuvaamalla niitä optisella mikroskoopilla. Työ toteutettiin laboratorio-

olosuhteissa hyödyntäen ilmaa nanokuplien tuottoon kaupallisella Micro SIO-nanokuplageneraattorilla.

Nanokuplien kuvaus osoittautui haastavaksi useiden yritysten jälkeen. Nanokuplia saatiin näkyville vain kaksi kertaa, joista parempilaatuinen kuva analysoitiin ImageJ-ohjelmistolla. Kuvan analyysissä nanokoon kuplia saatiin näkyviin vain muutamia. Nanokuplageneraattorin valmistajan mukaan laite tuottaa keskimäärin niin pienikokoisia kuplia, että ne eivät mahdollisesti riittäneet optisen mikroskoopin resoluutiolle.

Nanokuplien bakterisidista vaikutusta tutkittiin kahdella eri bakteerilla, *Enterococcus faecalis* ja *Legionella pneumophila*. Nanokuplilla ei todettu olevan vaikutusta *E. faecalis*-bakteeriin kahdessa erillisessä kokeessa, joissa bakteerin tunnettu pitoisuus ei laskenut nanokuplakäsittelyn myötä. *L. Pneumophila*-bakteerikokeessa nanokuplat vähensivät bakteerin määrää kokeen alussa, mutta sen jälkeen vaikutusta ei havaittu. On mahdollista, että putken seinämälle kiinnittynyt biofilmi irtosi kokeen aikana laitteistosta nanokuplien vaikutuksesta.

Hydrodynaamisella kavitaatiolla tuotettujen nanokuplien kykyä hapettaa kahdenarvoinen rauta tutkittiin rauta(II)sulfaattiliuoksen avulla. Kokeita tehtiin dynaamisen ärsyksen avulla kierrättämällä liuosta kavitaatiogeneraattorin läpi, sekä ilman sitä pelkällä käsittelöllä nanokuplavedellä, johon rauta(II)sulfaattiliuos lisättiin. Verrokkina käytettiin rauta(II)sulfaatin vesiliuosta. Tulokset eivät antaneet viitteitä nanokuplien nopeamasta vaikutuksesta raudan hapettumiseen kontrolliin verrattuna.

Veden kiehumispistettä ja veden lämpötilan nousunopeutta tutkittiin nanokuplaveden ja kontrollin avulla. Mittauksia tehtiin yhteensä 10 kertaa ja tuloksista laskettiin keskiarvo ja 95 %:n luottamusvälit. Tulokset antoivat yhteneväisesti hyvin pienen kiehumispisteen alenemisen ja lämpötilan nousunopeuden kasvun nanokuplaveden hyväksi, mutta tulokset erosivat niin vähän, että ne menivät mittaustarkkuuden vaihtelun sisälle. Tilastollista eroa ei siis todettu.

Tässä työssä käytetyt mittausmenetelmät viittaavat siihen, että ilmananokuplia voidaan havaita mikroskopoimalla, ja että nanokuplat vaikuttavat vähäisessä määrin tutkittuihin ominaisuuksiin. Havaitut heikot vaikutukset voivat johtua tuotettujen kuplien

ominaisuuksista tai niiden mahdollisesti heikosta stabiilisuudesta, joita ei tässä tutkimuksessa ollut mahdollista mitata. Ilmananokuplien on myös todettu olevan heikomminkin säilyviä ja vaikutuksiltaan vähäisempiä verrattuna muihin kaasuihin. Tässä työssä näytteiden lämpötiloja tai pH:ta ei ollut tarkoitus säätää, mutta näillä tekijöillä voi olla suuri vaikutus nanokuplien vaikutuksiin. Koejärjestelyitä pitäisi toistaa, jotta voitaisiin nähdä, ovatko vaikutukset toistettavissa ja mahdollisissa jatkotutkimuksissa voisi selvittää nanokuplien vaikutuksia vesijärjestelmissä.

LÄHTEET

- Acniti. (n.d.). The zeta-potential: Important stuff for nanobubbles. Haettu 18.3.2025 osoitteesta <https://www.acniti.com/technology/zeta-potential-ultrafine-bubbles/>
- Agarwal, A., Ng, W. J., & Liu, Y. (2011). Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment. *Chemosphere*, 84(9), 1175–1180. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.054>
- Ahmed, A. K. A., Sun, C., Hua, L., Zhang, Z., Zhang, Y., Zhang, W., & Marhaba, T. (2018). Generation of nanobubbles by ceramic membrane filters: The dependence of bubble size and zeta potential on surface coating, pore size and injected gas pressure. *Chemosphere*, 203, 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.157>
- Aikawa, A., Kioka, A., Nakagawa, M., & Anzai, S. (2021). Nanobubbles as corrosion inhibitor in acidic geothermal fluid. *Geothermics*, 89, 101962. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2020.101962>
- Alheshibri, M., Al Baroot, A., Shui, L., & Zhang, M. (2021). Nanobubbles and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 55, Artikkelin 101470. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101470>
- Athey, A. E., & Thiele, D. (2025). Shear flow nanobubble generator (Patentti U.S.A. US12251669B2). <https://bit.ly/4jfBxLY>
- Azevedo, A., Etchepare, R., Calgaroto, S., & Rubio, J. (2016). Aqueous dispersions of nanobubbles: Generation, properties and features. *Minerals Engineering*, 94, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2016.05.001>
- Brennen, C. E. (1995). *Cavitation and bubble dynamics*. Oxford University Press.
- Carey, V. P. (2020). *Liquid-vapor phase-change phenomena: An introduction to the thermophysics of vaporization and condensation processes in heat transfer equipment* (3. painos). CRC Press. <https://bit.ly/4mzdL7u>
- Cavicchi, R. E., & Avedisian, C. T. (2007). Bubble nucleation and growth anomaly for a hydrophilic microheater attributed to metastable nanobubbles. *Physical Review Letters*, 98(12), 124501. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.98.124501>
- Chae, S. H., Kim, M. S., Kim, J.-H., & Fortner, J. D. (2023). Nanobubble reactivity: Evaluating hydroxyl radical generation (or lack thereof) under ambient conditions. *ACS ES&T Engineering*, 3(10), 1504–1510. <https://doi.org/10.1021/acsestengg.3c00124>
- Cho, C. H., Shin, H. J., Singh, B., & Kim, D. H. (2023). Assessment of sub-200-nm nanobubbles with ultra-high stability in water. *Applied Water Science*, 13, Artikkelin 149. <https://doi.org/10.1007/s13201-023-01950-1>

Choi, H., Li, C., & Peterson, G. P. (2021). Dynamic processes of nanobubbles: Growth, collapse, and coalescence. *Journal of Heat Transfer*, 143(10).
<https://doi.org/10.1115/1.4051323>

Davidson, M. W. (n.d.). Resolution. Nikon Microscopy. <https://www.microscopyu.com/microscopy-basics/resolution>

Dayarathne, N., Jeong, S., & Jang, A. (2019). Chemical-free scale inhibition method for seawater reverse osmosis membrane process: Air micro-nano bubbles. *Desalination*, 461, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.03.008>

Dollet, B., & Lohse, D. (2016). Pinning stabilizes neighboring surface nanobubbles against Ostwald ripening. *Langmuir*, 32(43), 11335–11339.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02136>

Domingos, J. A., Huang, Q., Liu, H., Dong, H. T., Khongcharoen, N., Van, P. T., Nghia, N. H., Giang, P. T., Viet, P. T., & St-Hilaire, S. (2021). Air-nanobubbles ineffective to reduce pathogenic bacteria in fresh and brackish waters. *World Journal of Veterinary Research*, 1(1), Artikkel 1004.
<http://dx.doi.org/10.1101/2021.08.27.457885>

Ducker, W. (2009). Contact angle and stability of interfacial nanobubbles. *Langmuir*, 25(16), 8907–8910. <https://doi.org/10.1021/la902011v>

Dukhin, A., & Xu, R. (2024). A new approach to explaining nano-bubbles paradoxical longevity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 700, Artikkel 134805. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2024.134805>

Duncan, P. B., & Needham, D. (2004). Test of the Epstein–Plesset model for gas microparticle dissolution in aqueous media: Effect of surface tension and gas undersaturation in solution. *Langmuir*, 20(7), 2567–2578. <https://doi.org/10.1021/la034930i>

Favvas, E. P., Kyzas, G. Z., Efthimiadou, E. K., & Mitropoulos, A. C. (2021). Bulk nanobubbles, generation methods and potential applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 54, 101455. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101455>

Foudas, A. W., Kosheleva, R. I., Favvas, E. P., Kostoglou, M., Mitropoulos, A. C., & Kyzas, G. Z. (2023). Fundamentals and applications of nanobubbles: A review. *Chemical Engineering Research and Design*, 189, 64–86.
<https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.11.013>

Früh, A. (n.d.). Pourbaix diagram of iron [Diagrammi]. Wikimedia Commons.
https://en.wikipedia.org/wiki/File:Pourbaix_Diagram_of_Iron.svg. Lisenssi CC BY-SA 2.5.

Fu, X., Niu, Z., Lin, M., Gao, Y., Sun, W., & Yue, T. (2021). Strengthened oxygen oxidation of ferrous ions by a homemade Venturi jet microbubble generator towards iron removal in hydrometallurgy. *Minerals*, 11(12), 1342.
<https://doi.org/10.3390/min11121342>

Gligorovski, S., Streckowski, R., Barbati, S., & Vione, D. (2015). Environmental implications of hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$). *Chemical Reviews*, 115(24), 13051–13092. <https://doi.org/10.1021/cr500310b>

Goo, W. H., Ganesan, P. B., Yong, K. W., Ahmad, M. Y., Yau, Y. H., & Hamad, F. (2023). Air bubble size and its transition in a horizontal tube produced by Venturi-nozzle bubble generator. *Journal of Applied Fluid Mechanics*, 16(11), 2082–2100. <https://doi.org/10.47176/jafm.16.11.1845>

Hayakawa, T., Kuroiwa, A., Higashi, E., & Nakano, K. (2007). Photoinduced bactericidal effect of titania thin film against *Legionella pneumophila*. *Medical Bulletin of Fukuoka University*, 34(2), 71–81.

IDEXX Laboratories (2017). Legiolert test procedure.

Inoue, S., Kimura, Y., & Uematsu, Y. (2022). Ostwald ripening of aqueous microbubble solutions. *Journal of Chemical Physics*, 157(24), 244704. <https://doi.org/10.1063/5.0128696>

ISO 20480-1:2017. (2017). Fine bubble technology — General principles for usage and measurement of fine bubbles — Part 1: Terminology. International Organization for Standardization. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:20480:-1:ed-1:v1:en>

Jadhav, A., & Barigou, M. (2020). Proving and interpreting the spontaneous formation of bulk nanobubbles in aqueous organic solvent solutions: Effects of solvent type and content. *Soft Matter*, 16(18), 4240–4251. <https://doi.org/10.1039/D0SM00111B>

Jadhav, A. J., Ferraro, G., & Barigou, M. (2021). Generation of bulk nanobubbles using a high-shear rotor–stator device. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 60(23), 8597–8606. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c01233>

Jhunkeaw, C., Khongcharoen, N., Rungrueng, N., Sangpo, P., Panphut, W., Thapinta, A., Senapin, S., St-Hilaire, S., & Dong, H. T. (2021). Ozone nanobubble treatment in freshwater effectively reduced pathogenic fish bacteria and is safe for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 534, Artikkel 736286. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736286>

Jin, J., Wang, R., Tang, J., Yang, L., Feng, Z., Xu, C., Yang, F., & Gu, N. (2020). Dynamic tracking of bulk nanobubbles from microbubbles shrinkage to collapse. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 589, 124430. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124430>

Kalogerakis, N., Kalogerakis, G. C., & Botha, Q. P. (2021). Environmental applications of nanobubble technology: Field testing at industrial scale. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. <https://doi.org/10.1002/cjce.24211>

Kolho, E. (1997). Antibioottiresistentit enterokokit. Lääketieteellinen Aikakauskirja *Duodecim*, 113(11), 993–996. <https://www.duodecimlehti.fi/duo70218>

Kosheleva, R. I., Tzaneti, M., Tsoi, K., & Mitropoulos, A. C. (2022). Do nanobubbles survive after boiling? *Journal of Engineering Science and Technology Review*, 15(4), 1–6. <https://doi.org/10.25103/jestr.154.01>

Kyzas, G. Z., Bomis, G., Kosheleva, R. I., Efthimiadou, E. K., Favvas, E. P., Kostoglou, M., & Mitropoulos, A. C. (2019). Nanobubbles effect on heavy metal ions adsorption by activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, 356, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.019>

Lauterborn, W., & Ohl, C.-D. (1997). Cavitation bubble dynamics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4, 65–75. [https://doi.org/10.1016/s1350-4177\(97\)00009-6](https://doi.org/10.1016/s1350-4177(97)00009-6)

Li, J., Li, X., Li, K., Wang, Y., Chen, H., & Wang, Y. (2018). Plasmas ozone inactivation of *Legionella* in deionized water and wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 9697–9707. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1233-x>

Loret, J.-F., Robert, S., Thomas, V., Cooper, A. J., McCoy, W. F., & Levi, Y. (2006). Comparison of disinfectants for biofilm, protozoa and *Legionella* control. *Journal of Water and Health*, 3(4), 423–433. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.047>

Luo, A., Wang, T., Luo, P., Zheng, Z., Fiallos, M., Bian, Y., & Khu, S.-T. (2025). Mechanism by which micro-nano bubbles impact biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 11(3). <https://doi.org/10.1039/D4EW00704B>

Lyytikäinen, O., Jaakola, S., Kusnetsov, J., Räsänen, P., Airaksinen, P., Ruotsalainen, E., Hirvonen, J. J., Vuento, R., & Mentula, S. (2018). Muistetaanko legionelloja epäillä keuhkokuumeen aiheuttajana? *Läketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*, 134(8), 800–808. <https://www.duodecimlehti.fi/duo14295>

Manickam, S., & Ashokkumar, M. (2014). *Cavitation: A novel energy-efficient technique for the generation of nanomaterials*. CRC Press. <https://tinyurl.com/4pf45p9x>

Martínez Vimbert, R., Arañó Loyo, M., Custodio Sánchez, D., Garcia Raurich, J., & Monagas Asensio, P. (2020). Evidence of OH· radicals disinfecting indoor air and surfaces in a harmless for humans method. *International Journal of Engineering Research & Science (IJOER)*, 6(4), 1–6. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3767883>

Meegoda, J. N., Hewage, S. A., & Batagoda, J. H. (2018). Stability of nanobubbles. *Environmental Engineering Science*, 35(11), 1212–1222. <https://doi.org/10.1089/ees.2018.0203>

Michailidi, E. D., Bomis, G., Varoutoglou, A., Kyzas, G. Z., Mitrikas, G., Mitropoulos, A. Ch., Efthimiadou, E. K., & Favvas, E. P. (2020). Bulk nanobubbles: Production and investigation of their formation/stability mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science*, 564, 371–380. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.12.093>

Mokudai, T., Kawada, M., Tadaki, D., Hirano-Iwata, A., Kanetaka, H., Fujimori, H., Takemoto, E., & Niwano, M. (2024). Radical generation and bactericidal activity of nanobubbles produced by ultrasonic irradiation of carbonated water. *Ultrasonics Sonochemistry*, 103, Artikkel 106809. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106809>

Mukminin, D. A., Efendi, N., Ramandani, A. A., Cendekia, D., & Hanifah, W. (2023). Industrial wastewater treatment using venture injector type micro-bubble aeration as a reduction of dissolved iron (Fe^{2+}) levels. *Journal of Natural Sciences and Mathematics Research*, 9(2), 91–101. <https://doi.org/10.21580/jnsmr.2023.9.2.17594>

Nakajo, K., Komori, R., Ishikawa, S., Ueno, T., Suzuki, Y., Iwami, Y., & Takahashi, N. (2006). Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiology and Immunology*, 21(5), 283–288. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2006.00289.x>

Newton, K. A. (2023). 4.12: Pourbaix Diagrams. Chemistry LibreTexts. <https://chem.libretexts.org/@go/page/460677>

Ninomiya, K., & Hosoi, H. (2025). Effect of ultrafine bubbles on ultrasound-induced microbial inactivation. *Chemical Engineering Science*, 306, Artikkel 121233. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2025.121233>

Nirmalkar, N., Pacek, A. W., & Barigou, M. (2018a). On the existence and stability of bulk nanobubbles. *Langmuir*, 34(37). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01163>

Nirmalkar, N., Pacek, A. W., & Barigou, M. (2018b). Interpreting the interfacial and colloidal stability of bulk nanobubbles. *Soft Matter*, 14(47), 9643–9656. <https://doi.org/10.1039/C8SM01949E>

Nirmalkar, N., Pacek, A. W., & Barigou, M. (2019). Bulk nanobubbles from acoustically cavitated aqueous organic solvent mixtures. *Langmuir*, 35(6), 2188–2195. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03113>

Niskakoski, H. (15.4.2025). Henkilökohtainen sähköpostiviesti. EOD Europe.

Ogata, S., & Murata, Y. (2022). Disinfection of *Escherichia coli* by Mixing with Bulk Ultrafine Bubble Solutions. *Fluids*, 7(12), 383. <https://doi.org/10.3390/fluids7120383>

Oh, S. H., Yoon, S. H., Song, H., Han, J. G., & Kim, J.-M. (2013). Effect of hydrogen nanobubble addition on combustion characteristics of gasoline engine. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(34), 14849–14853. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.09.063>

Ohgaki, K., Khanh, N. Q., Joden, Y., Tsuji, A., & Nakagawa, T. (2010). Physico-chemical approach to nanobubble solutions. *Chemical Engineering Science*, 65(3), 1296–1300. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2009.10.003>

Osman, A. L., Alhatti, R., Sawas, H., Altoum, A. A. A., Shadroch, D. F., El-Sayed, W., Kandakurti, P. K., & Babker, A. M. A. (2020). An in vitro evaluation of the ability of ozone nano-bubble water to kill pathogenic gram-negative and gram-positive bacteria. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3), Artikkel 367. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.367>

Paknahad, A. A., Kerr, L., Wong, D. A., Kolios, M. C., & Tsai, S. S. H. (2021). Bio-medical nanobubbles and opportunities for microfluidics. *RSC Advances*, 11, 32750–32774. <https://doi.org/10.1039/D1RA04890B>

- Podbevšek, D., Lokar, Ž., Podobnikar, J., & others. (2021). Experimental evaluation of methodologies for single transient cavitation bubble generation in liquids. *Experimental Fluids*, 62, 167. <https://doi.org/10.1007/s00348-021-03260-1>
- Presser, K. A., Ratkowsky, D. A., & Ross, T. (1997). Modelling the growth rate of *Escherichia coli* as a function of pH and lactic acid concentration. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2355–2360. <https://bit.ly/4dmTZro>
- Rafeeq, S., Shiroodi, S., Schwarz, M. H., Nitin, N., & Ovissipour, R. (2020). Inactivation of *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio parahaemolyticus* by Curcumin-Mediated Photosensitization and Nanobubble-Ultrasonication Approaches. *Foods*, 9(9), 1306. <https://doi.org/10.3390/foods9091306>
- Ranade, V. V., Bhandari, V. M., Nagarajan, S., Sarvothaman, V. P., & Simpson, A. T. (2022). *Hydrodynamic cavitation: Devices, design and applications*. Elsevier.
- Richardson, J. F., & Harker, J. H. (2008). *Coulson & Richardson's chemical engineering* (5th ed., Vol. 2). Butterworth-Heinemann.
- Sakr, M., Mohamed, M. M., Maraqa, M. A., Hamouda, M. A., Hassan, A. A., Ali, J., & Jung, J. (2022). A critical review of the recent developments in micro–nano bubbles applications for domestic and industrial wastewater treatment. *Alexandria Engineering Journal*, 61(8), 6591–6612. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.11.041>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- SFS-EN ISO 11731:2017. (2017). Water quality — Enumeration of *Legionella*. Suomen Standardisoimisliitto. <https://online.sfs.fi>
- Sharma, S. K. (2001). Adsorptive iron removal from groundwater [Väitöskirja, Wageningen University & International Institute for Infrastructural, Hydraulic and Environmental Engineering]. wur.nl <https://edepot.wur.nl/212562>
- Shiroodi, S., Schwarz, M. H., Nitin, N., & Ovissipour, R. (2021). Efficacy of nanobubbles alone or in combination with neutral electrolyzed water in removing *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Listeria innocua* biofilms. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 287–297. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02572-0>
- SIO Nanobubble. (2023a). Nanobubble technology. <https://sionanobubble.com/nanobubble-technology/>
- SIO Nanobubble. (2023b). Nanobubbles generator. <https://sionanobubble.com/nanobubble-generator/>
- Spanos, N., Klepetsanis, P. G., & Koutsoukos, P. G. (2002). Calculation of zeta-potentials from electrokinetic data. *Encyclopedia of surface and colloid science* (Vol. 1, s. 829–845). Marcel Dekker.

- Sun, C., Wang, G., Sun, C., Liu, R., Zhang, Z., Marhaba, T., & Zhang, W. (2021). Optimization of iron removal in water by nanobubbles using response surface methodology. *Water Supply*, 21(4), 1608–1617. <https://doi.org/10.2166/ws.2021.042>
- Sun, L., Zhang, F., Guo, X., Qiao, Z., Zhu, Y., Jin, N., Cui, Y., & Yang, W. (2022). Research progress on bulk nanobubbles. *Particuology*, 60, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2021.03.003>
- Taanila, A. (25.4.2019). Keskiarvon virhemarginaali – lisätietoa. Akin menetelmäblogi. <https://tilastoapu.wordpress.com/2013/01/03/keskiarvon-virhemarginaali-lisatietoa/>
- Takahashi, M. (2005). zeta potential of microbubbles in aqueous solutions: Electrical properties of the gas–water interface. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(46), 21858–21864. <https://doi.org/10.1021/jp0445270>
- Takahashi, M., Chiba, K., & Li, P. (2007). Free-radical generation from collapsing microbubbles in the absence of a dynamic stimulus. *Journal of Physical Chemistry B*, 111(6), 1343–1347. <https://doi.org/10.1021/jp0669254>
- Tan, B. H., An, H., & Ohl, C.-D. (2020). How bulk nanobubbles might survive. *Physical Review Letters*, 124(13), 134503. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.124.134503>
- The European Guidelines Working Group. (2017). European technical guidelines for the prevention, control and investigation of infections caused by Legionella species. <https://bit.ly/4mnpHJ5>
- Turner, R. C., & Miles, K. E. (1957). The ultraviolet absorption spectra of the ferric ion and its first hydrolysis product in aqueous solutions. *Canadian Journal of Chemistry*, 35(9), 911–919. <https://doi.org/10.1139/v57-137>
- Uchida, T., Liu, S., Enari, M., & Gohara, K. (2016). Effect of NaCl on the lifetime of micro- and nanobubbles. *Nanomaterials*, 6(2), 31. <https://doi.org/10.3390/nano6020031>
- Ulatowski, K., Ježak, R., & Sobieszuk, P. (2021). Impact of process parameters on the diameter of nanobubbles generated by electrolysis on platinum-coated titanium electrodes using Box–Behnken experimental design. *Energies*, 14(9), 2542. <https://doi.org/10.3390/en14092542>
- Ultrafine Technologies & Solutions by PII. (10.9.2020). SIO Nanobubble Generator, UFB Hydrodynamic Cavitation - Slow Motion [Video]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=-LbB_faFOM4
- Ushikubo, F. Y., Furukawa, T., Nakagawa, R., Enari, M., Makino, Y., Kawagoe, Y., Shiina, T., & Oshita, S. (2010a). Evidence of the existence and the stability of nanobubbles in water. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 361(1–3), 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.03.005>

Ushikubo, F. Y., Enari, M., Furukawa, T., Nakagawa, R., Makino, Y., Kawagoe, Y., & Oshita, S. (2010b). Zeta-potential of micro- and/or nano-bubbles in water produced by some kinds of gases. <https://www.researchgate.net/publication/289084168>

Valvira. (2024). Talousvesisäännösten soveltamisohje. Osa II. Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto. <https://bit.ly/43nPUyA>

Vehmas, T., & Makkonen, L. (2021). Metastable nanobubbles. ACS Omega, 6(12), 8168–8174. <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c05384>

Wang, B., Su, H., & Zhang, B. (2021). Hydrodynamic cavitation as a promising route for wastewater treatment – A review. Chemical Engineering Journal, 412, 128685. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128685>

Wang, B., Wang, L., Cen, W., Lyu, T., Jarvis, P., Zhang, Y., Zhang, Y., Han, Y., Wang, L., Pan, G., Zhang, K., & Fan, W. (2024). Exploring a chemical input free advanced oxidation process based on nanobubble technology to treat organic micropollutants. Environmental Pollution, 340(Part 1), 122877. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122877>

Wang, L., Ali, J., Wang, Z., Oladoja, N. A., Cheng, R., Zhang, C., Mailhot, G., & Pan, G. (2020). Oxygen nanobubbles enhanced photodegradation of oxytetracycline under visible light: Synergistic effect and mechanism. Chemical Engineering Journal, 388, 124227. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124227>

Wang, T., Yang, C., Sun, P., Wang, M., Lin, F., Fiallos, M., & Khu, S.-T. (2024). Generation Mechanism of Hydroxyl Free Radicals in Micro–Nanobubbles Water and Its Prospect in Drinking Water. Processes, 12(4), 683. <https://doi.org/10.3390/pr12040683>

Wang, W., Fan, W., Huo, M., Zhao, X., & Dong, H. (2018). Hydroxyl radical generation and contaminant removal from water by the collapse of microbubbles under different hydrochemical conditions. Water, Air, & Soil Pollution, 229, Artikkel 86. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3745-x>

Wang, X., Li, P., Ning, R., Ratul, R., Zhang, X., & Ma, J. (2023). Mechanisms on stability of bulk nanobubble and relevant applications: A review. Journal of Cleaner Production, 426, Artikkel 139153. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139153>

Wang, Y., & Wang, T. (2023). Preparation method and application of nanobubbles: A review. Coatings, 13(9), 1510. <https://doi.org/10.3390/coatings13091510>

Weijjs, J., Seddon, J., & Lohse, D. (2012). Diffusive shielding stabilizes bulk nanobubble clusters. ChemPhysChem, 13(8), 2197–2204. <https://doi.org/10.1002/cphc.201100807>

Witharana, S., Phillips, B., Strobel, S., Kim, H. D., McKrell, T., Chang, J.-B., Buongiorno, J., Berggren, K. K., Chen, L., & Ding, Y. (2012). Bubble nucleation on nano- to micro-size cavities and posts: An experimental validation of classical theory. Journal of Applied Physics, 112(6). <https://doi.org/10.1063/1.4752758>

Wu, Y., Lyu, T., Yue, B., Tonoli, E., Verderio, E. A. M., Ma, Y., & Pan, G. (2019). Enhancement of tomato plant growth and productivity in organic farming by agri-nanotechnology using nanobubble oxygation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(39), 10823–10831. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04117>

Yasui, K., Tuziuti, T., Kanematsu, W., & Kato, K. (2016). Dynamic equilibrium model for a bulk nanobubble and a microbubble partly covered with hydrophobic material. *Langmuir*, 32(43), 11101–11110. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b04703>

Yasui, K., Tuziuti, T., & Kanematsu, W. (2018). Mysteries of bulk nanobubbles (ultrafine bubbles); stability and radical formation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.038>

Yasui, K., Tuziuti, T., & Kanematsu, W. (2019). High temperature and pressure inside a dissolving oxygen nanobubble. *Ultrasonics Sonochemistry*, 55, 308–312. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.01.013>

Yasui, K. (2022). On some aspects of nanobubble-containing systems. *Nanomaterials*, 12, 2175. <https://doi.org/10.3390/nano12132175>

Yu, P., Wang, J., Chen, J., Guo, J., Yang, H., & Chen, Q. (2019). Successful control of phosphorus release from sediments using oxygen nano-bubble-modified minerals. *Science of The Total Environment*, 663, 654–661. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.265>

Zhang, F., Sun, L., Yang, H., Gui, X., Schönherr, H., Kappl, M., Cao, Y., & Xing, Y. (2021). Recent advances for understanding the role of nanobubbles in particles flotation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 291, 102403. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102403>

Zhang, L., Chen, H., Li, Z., Fang, H., & Hu, J. (2008). Long lifetime of nanobubbles due to high inner density. *Science in China Series G: Physics, Mechanics and Astronomy*, 51(2), 219–224. <https://doi.org/10.1007/s11433-008-0026-5>

Zhang, R., Gao, Y., Chen, L., & Ge, G. (2022). Nanobubble boundary layer thickness quantified by solvent relaxation NMR. *Journal of Colloid and Interface Science*, 609, 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.11.072>

Zhang, X., Chan, D. Y. C., Wang, D., & Maeda, N. (2013). Stability of interfacial nanobubbles. *Langmuir*, 29(4), 1017–1023. <https://doi.org/10.1021/la303837c>

Zhang, X., Lhuissier, H., Sun, C., & Lohse, D. (2014). Surface nanobubbles nucleate microdroplets. *Physical Review Letters*, 112, 144503. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.112.144503>

Zou, J., Zhang, H., Guo, Z., Liu, Y., Wei, J., Huang, Y., & Zhang, X. (2018). Surface nanobubbles nucleate liquid boiling. *Langmuir*, 34(46), 14096–14101. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03290>

LIITE 1: NANOKUPLIEN KUVAUS

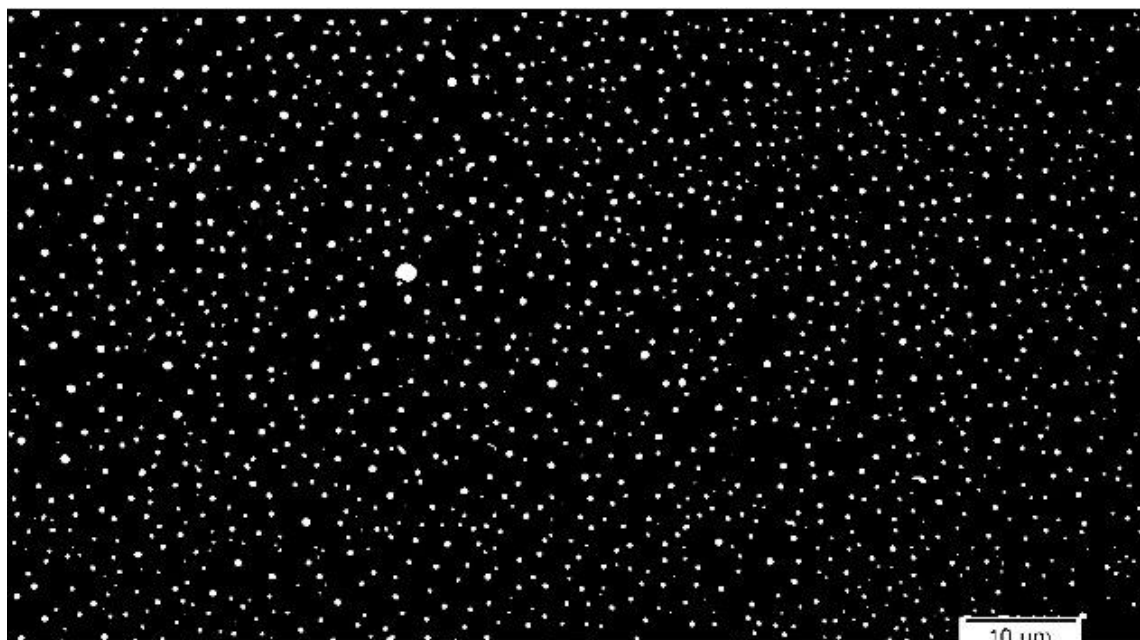
Taulukko 1. Käsittelytapojen muutokset nanokuplien kuvauksessa.

Koe	Ilmastus ennen koetta	Käsittelyastian koko	Paineilman syöttö	Pumpun teho	Paine ennen SIO	Paine SIO:n jälkeen	Läpivirtaus SIO:n läpi	SIO-käsittelyaika	Näyte-koko	pH:n säätö	Metyleeninen lisäystepa	Kuvausalusta	SIO-käsittelyn jälkeen kiehutettu näyte
1	0 min	10 l	kyllä	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min	6-12-20 min	300 ml	ei	vesiliuoksessa	kyvetti	ei
2	60 min	10 l	kyllä	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min	20 min	100 ml	kyllä	kiinteä	objektilasi	ei
3	10 min	0,8 l	kyllä	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min	5 min	100 ml	kyllä	kiinteä	objektilasi	ei
4	0 min	10 l	ei	62,0 W	2,4(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	2,74 l/min	20 min	100 ml	ei	kiinteä	objektilasi	ei
5	60 min	10 l	kyllä	43,2 W	2,0(±0,1)bar	0,1(±0,1)bar	1,87 l/min	20 min	100 ml	ei	kiinteä	objektilasi	kyllä

Koesarjasta 2 saatu kuva (5.1. Nanokuplien kuvaus, kuva 5) käsiteltiin ImageJ-ohjelmistolla kuplien halkaisijan laskemiseksi. Vertailtavuuden varmistamiseksi Azevedon ym. esittämä kuva käsiteltiin samalla menetelmällä kuin tämän työn aineisto. Kuvat kalibroitiin set scale-toiminnolla. RGB-kuvasta erotettiin värikanavat ja niistä valittiin vihreä kanava jatkokäsittelyyn. Kuvasta tehtiin binäärimaski käyttämällä threshold-toimintoa, jossa kuplat erotettiin taustasta kirkkausarvojen perusteella. Kuplien koko laskettiin analyze particles-toiminnolla. Kuvassa 1 näkyy kuvasta (5.1. Nanokuplien kuvaus, kuva 5) ohjelman tekemä threshold-kuva kuplista. Azevedo ym. (2016) tutkimuksen kuva 2 on käsitelty samalla tavalla.



Kuva 1. ImageJ:n tekemä binäärimaski threshold-toiminnolla kuvasta 5.1. Nanokuplien kuvaus, kuva 5.



Kuva 2. Azevedo ym. (2016) kuvan binäärimaski.

LIITE 2: NANOKUPLIEN VAIKUTUKSET ENTEROCOCCUS FAECALIS- JA LEGIONELLA PNEUMOPHILA-BAKTEERIEN PITOISUUKSIIN

Työn tarkoituksena on tarkastella hydrodynaamisella kavitaatiolla tuotettujen nanokuplien vaikutusta *Enterococcus faecalis*- ja *Legionella pneumophila*-bakteerien määriin vesinäytteessä.

E. faecalis-bakteerista tehtiin ensin pitoisuuden määrittäminen spektrofotometrisesti. Menetelmässä määritetään suspension absorbanssi UV/VIS-spektrofotometrillä ja verrataan sitä viljelytulokseen. *E. faecalis*-bakteerin viljely aloitettiin kaksi vuorokautta aiemmin lisäämällä 5 ml valmista steriloitua Brain Heart Infusion Broth (BHI)-lientä koeputkeen ja lisäämällä yksi helmi *E. faecalis*-bakteerin tyypikantaa putkeen. Liemeä viljeltiin lämpökaapissa kaksi vuorokautta +36 °C:een lämpötilassa. Tämän jälkeen koeputkea vorteksoitiin ja siitä tehtiin laimennossarja -1 - -8, joissa 1 ml liuosta ja 9 ml laimennosliuosta. Laimennosliuoksena käytettiin aiemmin tehtyä steriiliä Phosphate Buffered Saline (PBS)-liuosta. Liuoksista mitattiin absorbanssi 600 nm:ssä ja tulokset olivat seuraavan taulukon 1 mukaiset.

Taulukko 1. Bakteerisuspension absorbanssit 600 nm:ssä.

Laimennos	ABS
-8	0,0004
-7	0,0004
-6	0,0005
-5	0,0009
-4	0,0016
-3	0,0032
-2	0,0234
-1	0,2076

Laimennossarjasta viljeltiin pintalevitystekniikalla 100 µl ostohankituille Tryptic Soy Agar (TSA)-maljoille ja inkuboitiin niitä kaksi vuorokautta +36 °C:een lämpötilassa. Tämän jälkeen maljoista laskettiin pesäkkeet. Vain sellaiset maljat laskettiin mukaan,

joissa oli alle 300 pesäkettä, jotta se oli vielä luettavissa. Mukaan laskettiin seuraavat maljat:

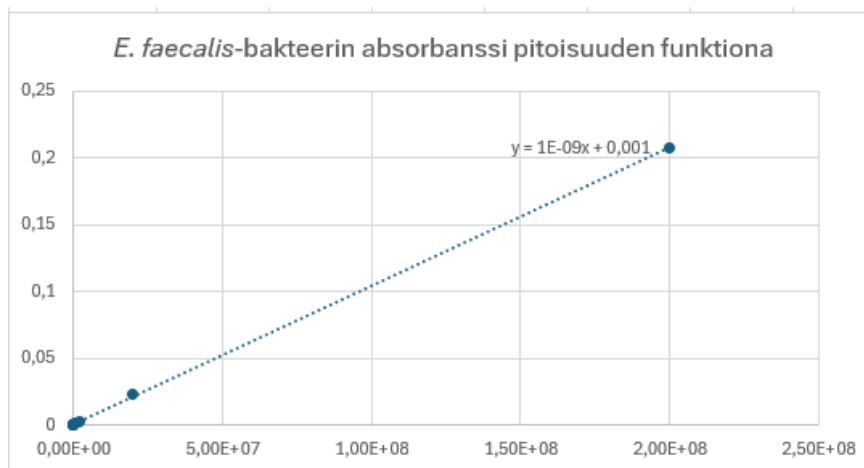
Laimennos -7 = 191 pmy/ml

Laimennos -8 = 30 pmy/ml

Alkuperäisen suspension pitoisuus saatiin seuraavan kaavan (1) avulla:

$$\frac{191+30}{0,0000001+0,00000001} = 2,0 \cdot 10^9 \text{ pmy/ml} \quad (1)$$

Liuoksen pitoisuudesta laadittiin excelissä kuvio 1, jossa Y-akselilla oli mitatut absorbanssit ja X-akselilla laimennoskertoimesta lasketut pitoisuudet.



Kuvio 1. *E. faecalis*-bakteerin absorbanssi pitoisuuden funktiona

Suoran yhtälön kaava (2) oli seuraavanlainen:

$$y = 1E - 9x + 0,001 \quad (2)$$

Tätä suoraa käytettiin tulevien mikrobisuspensioiden pitoisuuksien määrittämiseen.

E. faecalis-bakteerin uusi viljely tehtiin samalla menetelmällä kuin aiemmin. Aiemman tuloksen perusteella spektrofotometriseen määrittämiseen valittiin laimennos -1 ja sen absorbanssiksi 600 nm:ssä saatiin 0,1893 ABS. Tämän tuloksen avulla suoran yhtälöstä (kaava 2) laskettiin laimennoksen pitoisuus seuraavan kaavan (3) avulla, jossa y on mitattu absorbanssi.

$$x = \frac{0,1893-0,001}{0,000000001} = 1,9 \cdot 10^8 \text{ pmy/ml} \quad (3)$$

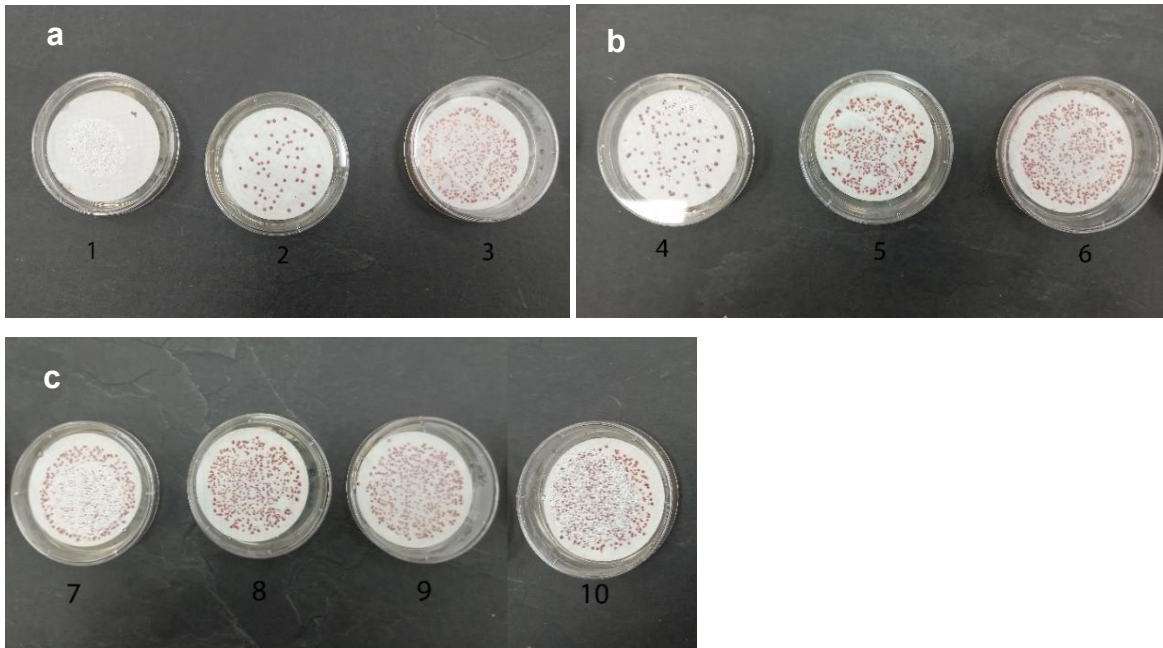
jolloin alkuperäisen suspension pitoisuus oli kaavan (4) mukainen:

$$10 \cdot 1,9 \cdot 10^8 = 1,9 \cdot 10^9 \text{ pmy/ml} \quad (4)$$

Vesinäyte, johon bakteerisuspensiota lisättiin, oli tilavuudeltaan 10 litran muovikanis-
teri, jolloin pitoisuudeksi 1000 pmy/100 ml tarvittiin -4 laimennosta 0,625 ml.

Taulukko 2. *Enterococcus faecalis*-koe 1, näyteajat, mitatut suureet ja viljelytulokset. Näytteet 11 ja 12 olivat tyhjiä, joka johtui agar-maljan viasta, joissa oli vain n. 1 mm:n paksuinen agar-kerros. Kerroksen kuuluisi olla n. 8-10 mm:n paksuinen Tätä ei ollut huomattu maljoja tehdessä, ja nämä näytteet poistettiin tuloksista.

nro	näyte	Näyte-	johtokyky			
	(SIO-käsittelyaika)	koko [ml]	pH	[μ S/cm]	t [°C]	pmy
1.	IV-vesi	100	5,64	30,1	20,8	0
2.	0 min	10				57
3.	0 min	100	6,16	18,2	21,0	464
4.	6 min	10				89
5.	6 min	100	6,19	17,6	21,0	568
6.	12 min	100	6,25	11,4	20,8	460
7.	20 min	100	6,21	11,5	21,0	Yli 600
8.	30 min	100	6,33	11,1	20,9	Yli 600
9.	45 min	100	6,28	17,0	20,8	Yli 600
10.	60 min	100	6,17	32,2	21,0	Yli 600
11.	90 min	100	6,37	14,2	21,0	-
12.	120 min	100	6,32	10,8	20,9	-



Kuva 1. *Enterococcus faecalis*-koe 1, kuvat maljoista, 1-3 (a), 4-6 (b), 7-10 (c)

E. faecalis-bakteerista tehtiin uusi viljely kokeeseen 2 samalla menetelmällä kuin aiemmin. Aiemman tuloksen perusteella spektrofotometriseen määrittämiseen valittiin laimennos -1 ja sen absorbanssiksi 600 nm:ssä saatiin 0,1825 ABS. Tämän tuloksen avulla aiemmin tehdyn suoran yhtälöstä (kaava 2) laskettiin laimennoksen pitoisuus seuraavan kaavan (5) avulla, jossa y on mitattu absorbanssi.

$$x = \frac{0,1825 - 0,001}{0,000000001} = 1,8 \cdot 10^8 \text{ pmy/ml} \quad (5)$$

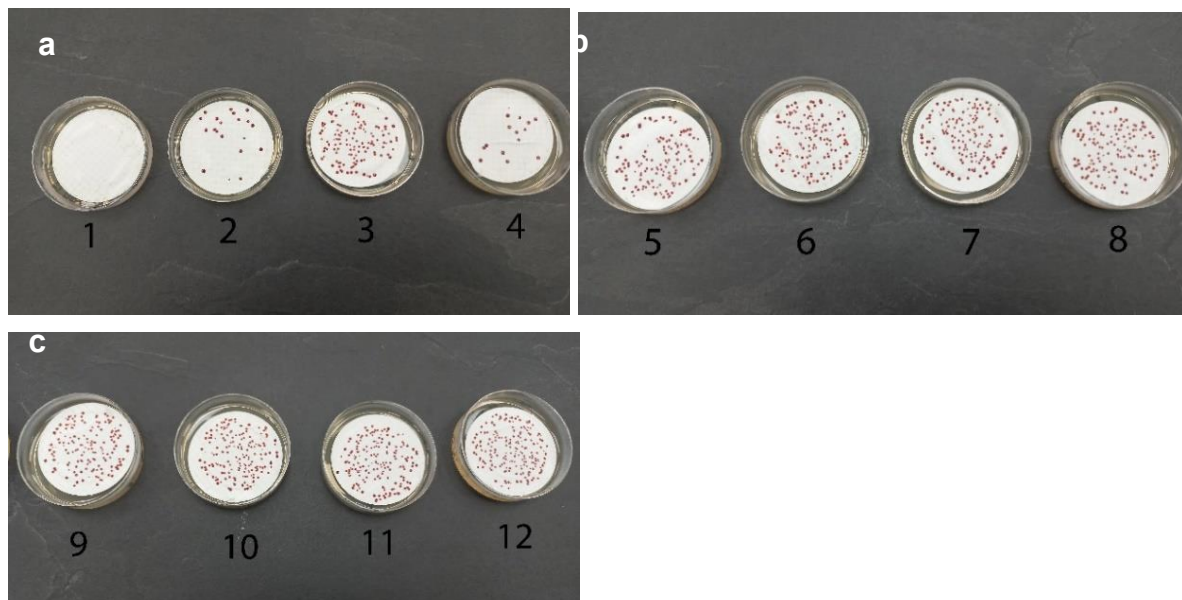
jolloin alkuperäisen suspension pitoisuus oli kaavan (6) mukainen.

$$10 * 1,8 \cdot 10^8 = 1,8 \cdot 10^9 \text{ pmy/ml} \quad (6)$$

Näytteen haluttu pitoisuus oli 300 pmy/ml, jolloin 10 l kanisteriin tarvittiin -5 laimennosta 1,667 ml.

Taulukko 4. *Enterococcus faecalis*-koe 2, näyteajat, mitatut suureet ja viljelytulokset.

nro	näyte (SIO-käsitte- lyaika)	Näyte- koko [ml]	johtokyky			
			pH	[μ S/cm]	t [°C]	pmy
1.	IV-vesi	100	6,52	1,6	21,5	0
2.	0 min	10	6,36	4,9	21,6	20
3.	0 min	100				126
4.	5 min	10	6,16	4,9	21,9	15
5.	5 min	100				121
6.	10 min	100	5,84	4,8	21,7	135
7.	15 min	100	5,94	5,1	21,9	149
8.	20 min	100	5,84	4,8	21,8	139
9.	30 min	100	6,02	4,9	22,1	151
10.	45 min	100	5,96	4,9	22,0	167
11.	60 min	100	6,00	5,1	22,2	161
12.	90 min	100	5,98	4,7	22,7	186

Kuva 2. *Enterococcus faecalis*-koe 2, kuvat maljoista, 1-4 (a), 5-8 (b), 9-12 (c)

Taulukko 5. *Legionella pneumophila*-kokeen tulokset ja mitatut suureet. *5:n ja 6:n näytteen välissä 60 min tauko, jolloin pumppu ei ollut päällä. Näytteiden väli oli siis 120 min, josta 60 min SIO-käsittelyä.

Näyte nro	SIO- käsittelyaika	pH	johto- kyky [μ S/cm]	t [°C]	lämpö- kaap- piin	luettu 7 vrk	MPN/ 100 ml
0	0-näyte (IV-vesi)	7,81	2,4	21,5	8:53	8:43	3,5
1	0 min	7,58	2,8	20,9	9:35	9:45	977,2
2	5 min	6,91	1,1	21,1	9:35	9:49	735,0
3	10 min	6,43	1,3	21,3	9:40	9:49	448,9
4	20 min	6,16	1,1	21,7	9:48	9:49	554,9
5*	60 min	6,31	1,2	23,8	10:27	10:27	812,8
6*	120 min	6,31	1,5	24,8	12:43	12:41	>2272,6
7	180 min	6,70	1,7	25,6	13:43	14:05	>2272,6
8	240 min	6,76	1,5	27,0	14:43	14:45	>2272,6
9	300 min	6,34	1,6	27,3	15:43	15:30	>2272,6

LIITE 3: RAUTA(II)SULFAATIN HAPETTUMINEN

Työn tarkoituksena on tarkastella rauta(II)sulfaattiheptahydraatin ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) sisältämän rauta(II):n hapettumista rauta(III):ksi hydrodynaamisen kavitaation tuottamien nanokuplien avulla.

Taulukko 1. Koe 1, mitatut absorbanssit $\lambda=400$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä käsiteltiin kierrättämällä sitä SIO-laitteiston läpi. SIO-käsitelty näyte $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=1,87$ l/min. Verrokki $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=0,0$ l/min

SIO-käsittely- aika min	Näyte nro	SIO ABS	verrokki ABS
0	0-näyte	0,0229	0,0239
3	1.	0,0273	0,0259
6	2.	0,0278	0,0269
10	3.	0,0322	0,0291
15	4.	0,0374	0,0302
20	5.	0,0435	0,0305
30	6.	0,0608	0,0320

Taulukko 2. Koe 2, mitatut absorbanssit $\lambda=350$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä käsiteltiin kierrättämällä sitä SIO-laitteiston läpi, verrokin kiertäessä ilman SIO-laitetta. SIO-käsitelty näyte $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=1,87$ l/min. Verrokki $C(\text{Fe(II)})=0,01\text{M}$, $V=4,80$ l/min.

min	Näyte nro	SIO ABS	verrokki ABS
0	0-näyte	0,0621	0,0621
3	1.	0,0657	0,0665
6	2.	0,0686	0,0646
10	3.	0,0714	0,0638
15	4.	0,0687	0,0609
20	5.	0,0724	0,0566
30	6.	0,0767	0,0518

Taulukko 3. Vesinäytteiden kierrätys SIO-laitteen läpi, koe 3 & 4.

SIO-käsittely- aika [min]	SIO:n läpi kulkenut tilavuus [l]	Näyte kulke- nut SIO:n läpi /kerta
0	0	0
3	8,2	1,6
6	16,5	3,3
10	27,4	5,5
20	54,8	10,9

Taulukko 4. Koe 3. Mitatut absorbanssit $\lambda=320$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä lisättiin eri nanokuplakonsentraatioissa oleviin liuoksiin. Veden SIO-käsittely $V=2,74$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$. Verrokki $V=0,0$ l/min, näytteen $C(\text{Fe(II)})=0,046\text{M}$. Kohdassa 0 minuuttia ei ole mittaustulosta, sillä välittömästi rautasulfaatin lisäyksen jälkeen kesti 3 minuuttia, ennen kuin ensimmäistä näytettä päästiin mittaamaan, joten se puuttuu mittaustuloksista.

	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
min	0 min kierrätetty	3 min kierrätetty	6 min kierrätetty	10 min kierrätetty	20 min kierrätetty
3	0,6191	0,6069	0,6173	0,6025	0,614
6	0,6326	0,6033	0,6149	0,582	0,5958
9	0,5526	0,5565	0,5824	0,5499	0,5405
12	0,5177	0,4913	0,5377	0,5057	0,5244

Taulukko 5. Mitatut pH-arvot Fe(II):n hapettumiskokeissa, koe 3.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min kierrätetty	3 min kierrätetty	6 min kierrätetty	10 min kierrätetty	20 min kierrätetty
6		3,54	3,58	3,59	
12		3,51	3,55	3,53	

Taulukko 6. Mitatut lämpötilat Fe(II):n hapettumiskokeissa , t[°C], koe 3.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min kierrätetty	3 min kier- rätetty	6 min kier- rätetty	10 min kierrätetty	20 min kierrätetty
6	21,8	21,8	21,4	20,6	22,9
12	23,0	23,0	22,0	20,5	23,7

Taulukko 7. Mitatut happipitoisuudet Fe(II):n hapettumiskokeissa, O₂ [mg/l], koe 3.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min kierrätetty	3 min kier- rätetty	6 min kier- rätetty	10 min kier- rätetty	20 min kier- rätetty
9	6,77	7,06	7,30	8,23	8,92

Taulukko 8. Koe 4, mitatut absorbanssit $\lambda=380$ nm Fe(II):n hapettumiskokeissa, joissa Fe(II):a sisältävää vettä lisättiin nanokuplia eri konsentraatioissa oleviin liuoksiin. Veden SIO-käsittely V=2,74 l/min, näytteen C(Fe(II))=0,046M. Verrokki V=0,0 l/min, näytteen C(Fe(II))=0,046M. Kohdassa 0 minuuttia ei ole mittaustulosta, sillä välittömästi rautasulfaatin lisäyksen jälkeen kesti 3 minuuttia, ennen kuin ensimmäistä näytettä päästiin mittaamaan, joten se puuttuu mittaustuloksista.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min kierrätetty	3 min kierrätetty	6 min kierrätetty	10 min kierrätetty	20 min kierrätetty
3	0,1826	0,1890	0,1667	0,1803	0,1879
6	0,2352	0,2368	0,2102	0,2307	0,2318
15	0,2684	0,2681	0,2467	0,2739	0,2676
20	0,2767	0,2810	0,2544	0,2882	0,2764

Taulukko 9. Mitatut pH-arvot Fe(II):n hapettumiskokeissa, koe 4.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min	3 min	6 min	10 min	20 min
	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty
0	3,68				
6	3,60		3,60		3,50
15	3,58		3,54		3,58
20	3,56		3,56		3,56

Taulukko 10. Mitatut lämpötilat Fe(II):n hapettumiskokeissa, t[°C], koe 4.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min	3 min	6 min	10 min	20 min
	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty
15	21,8	22,3	20,7	20,3	20,7
20	22,3	22,5	21,1	20,3	21,0

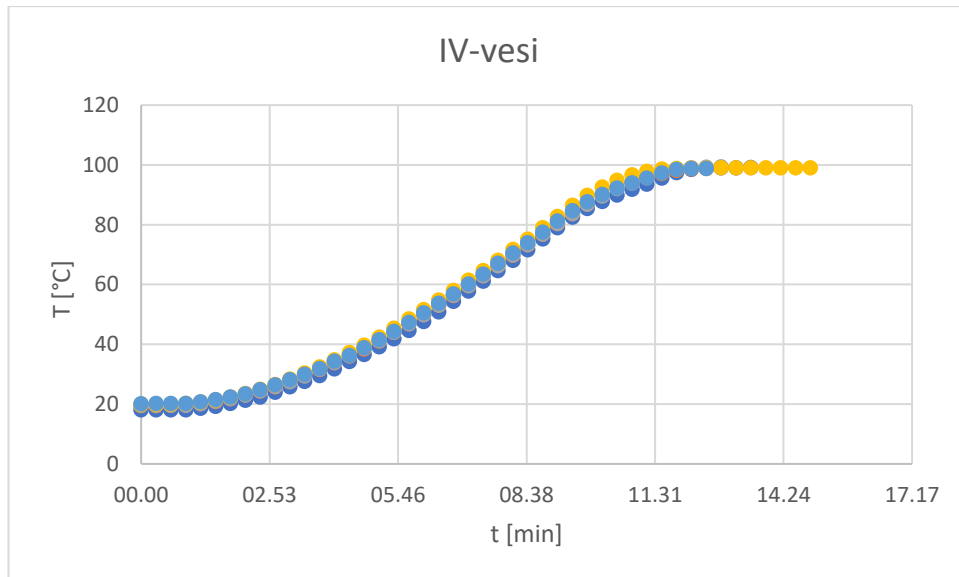
Taulukko 11. Mitatut happipitoisuudet Fe(II):n hapettumiskokeissa, O₂ [mg/l], koe 4.

min	Verrokki	SIO	SIO	SIO	SIO
	0 min	3 min	6 min	10 min	20 min
	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty	kierrätetty
6	6,87	7,44	7,38	7,60	7,62
20	7,65	7,78	7,65	7,87	7,92

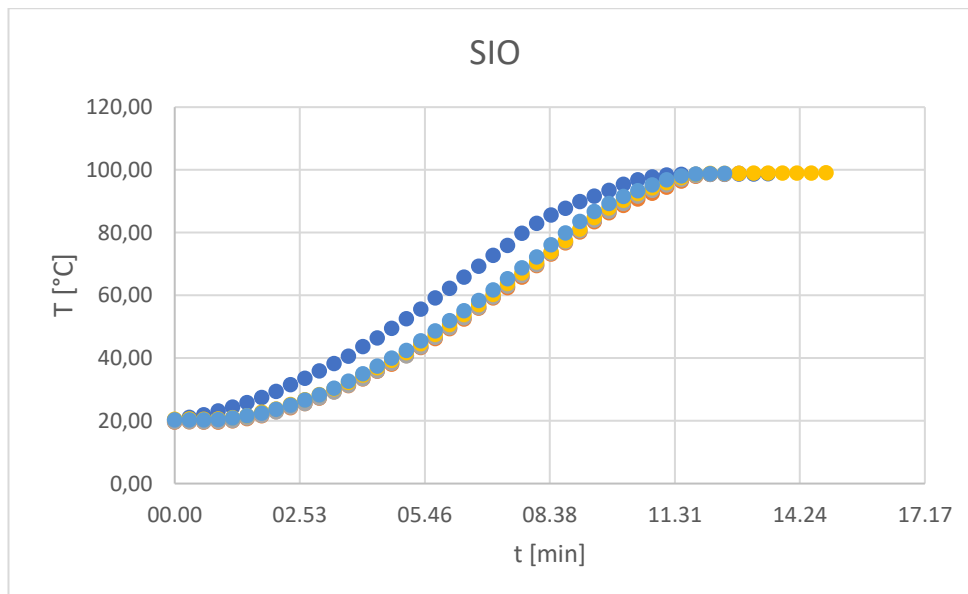
LIITE 4: HYDRODYNAAMISELLA KAVITAATIOILLA KÄSITELLYN VEDEN KIEHUMISPISTE

Taulukko 1. Lämpötilamittausten tulokset kiehutuskokeessa. $kp[°C]$ on kirjallisuudesta katsottu veden todellinen kiehumispiste mitatulle ilmanpaineelle. Alin aika 1:00:00 on aloitettu laskemaan näytteen saavutettua ko. arvon yläpuolella olevan korkeimman lämpötilan.

IV-vesi			IV-vesi			IV-vesi			IV-vesi			IV-vesi			
9.7.		kp [°C]	18.7.		kp [°C]	23.7.		kp [°C]	25.7.		kp [°C]	26.7.		kp [°C]	erotus k-a [°C]
ilmanpaine kPa	101,2	99,96	ilmanpaine kPa	100,4	99,74	ilmanpaine kPa	100,6	99,80	ilmanpaine kPa	100,4	99,74	ilmanpaine kPa	100,4	99,74	0,76
aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		
0:00:00	18,06		0:00:00	19,50		0:00:00	19,56		0:00:00	20,00		0:00:00	20,12		
13:40	99,12		12:40	98,81		13:00	99,37		15:00	99,06		12:40	98,81	99,03	k-a
1:00:00	45,81		1:00:00	45,06		1:00:00	45,88		1:00:00	45,44		1:00:00	45,19	45,48	k-a
SIO			SIO			SIO			SIO			SIO			
12.7.		kp [°C]	17.7.		kp [°C]	19.7.		kp [°C]	24.7.		kp [°C]	30.7.		kp [°C]	erotus k-a [°C]
ilmanpaine kPa	100,5	99,77	ilmanpaine kPa	100,5	99,77	ilmanpaine kPa	100,5	99,77	ilmanpaine kPa	100,5	99,77	ilmanpaine kPa	100,5	99,77	0,86
aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		aika	t [°C]		
0:00:00	20,37		0:00:00	19,62		0:00:00	19,75		0:00:00	20,56		0:00:00	20,31		
13:40	98,81		13:00	98,87		13:00	98,87		15:00	99,12		12:40	98,87	98,91	k-a
1:00:00	45,38		1:00:00	46,25		1:00:00	45,94		1:00:00	45,56		1:00:00	45,50	45,73	k-a



Kuvio 1. Kaikkien verrokinäytteiden (IV-vesi) mitatut lämpötilat ajan funktiona kiehutuskokeessa.



Kuvio 2. Kaikkien SIO-käsiteltyjen näytteiden mitatut lämpötilat ajan funktiona kiehutuskokeessa.

Taulukko 2. IV-veden ja SIO-käsittelyn näytteen keskiarvot ja luottamusvälit lämpötilan muutosnopeuksien kulmakertoimista.

Näyte	Keskiarvo	Otoskeskihajonta	Keskivirhe	Luottamusväli
				t-jakauma
IV-vesi	0,16554	0,00327	0,00146	0,00406
SIO-käsitelty	0,16821	0,00216	0,00097	0,00269