



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ingeniería Agrícola
Programa de Magíster en Ingeniería Agrícola

**TECNOLOGÍA DE BURBUJAS FINAS Y ULTRAFINAS: ACTUALES Y
POTENCIALES APLICACIONES EN EL ÁREA AGROINDUSTRIAL**



Tesis para optar al grado de Magíster en Ingeniería Agrícola con mención en
Agroindustrias

MARÍA IGNACIA MARGARITA VÁSQUEZ BENAVIDES

CHILLÁN-CHILE
2020

Profesor Guía: Juan A. Cañumir Veas
Dpto. de Agroindustrias
Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Agroindustrias de la Facultad de Ingeniería Agrícola, Universidad de Concepción.

Profesor Guía

Dr. Juan A. Cañumir Veas
Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora:



Dr. Christian Folch Cano
Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Dr. Ricardo Villalobos Carvajal
Facultad de Ciencias de la Salud y los Alimentos
Universidad del Bío Bío

Director de Programa

Dr. Javier Ferrer Valenzuela
Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Hipótesis.....	3
1.2. Objetivos.....	3
2. DEFINICIÓN.....	5
2.1. Terminología y clasificación.....	5
3. CARACTERÍSTICAS.....	7
4. GENERACIÓN DE BF Y BUF.....	12
5. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN.....	14
6. METODOLOGÍA.....	16
6.1. Preparación de las muestras.....	16
6.2. Generación de BF y BUF.....	16
6.3. Caracterización de BF y BUF mediante DLS.....	17
6.4. Caracterización de BF y BUF mediante análisis de imágenes.....	18
6.5. Análisis estadístico.....	18
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
7.1. Caracterización de BF y BUF mediante DLS.....	19
7.1.1. Distribución de tamaño de AUP, BF y BUF a distintos pH.....	19
7.1.2. Tamaño y potencial ζ de BF y BUF a distintos pH durante el tiempo.....	25
7.2. Caracterización de BF y BUF mediante análisis de imágenes.....	31

8. POTENCIALES APLICACIONES EN LA AGROINDUSTRIA.....	37
8.1. Alimentos.....	37
8.2. Limpieza de superficies.....	40
8.3. Tratamiento de aguas residuales.....	40
8.4. Otras aplicaciones.....	43
9. CONCLUSIONES.....	45
10. BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Tamaños y clasificación de burbujas.....	6
Figura 2. Aumento de la presión del gas interior de las MB durante la contracción a 298 °K, 100 kPa.....	8
Figura 3. Interfaz gas-líquido y el potencial ζ	10
Figura 4. Modelo teórico del método GaLF.....	13
Figura 5. Generador de BUF miniGaLF.....	16
Figura 6. Analizador de partículas Zetasizer Nano ZS.....	17
Figura 7. Distribución de tamaño de partículas en AUP (control).....	19
Figura 8. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 6 (blanco).	20
Figura 9. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 6, día 0.....	21
Figura 10. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 7 (blanco).....	22
Figura 11. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 7, día 0.....	22
Figura 12. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 8 (blanco)	23

Figura 13. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 8, día 0.....	24
Figura 14. Evolución del diámetro de burbujas a diferentes pH durante el tiempo.....	26
Figura 15. Evolución del Potencial ζ de burbujas a diferentes pH durante el tiempo.....	30
Figura 16. Control AUP-Azul de metileno.....	32
Figura 17. Control AUP-Azul de metileno, Burbujas menores a 1 μm ...	33
Figura 18. Muestra de agua con burbujas con azul de metileno como medio de contraste.....	33
Figura 19. Muestra de agua con burbujas menores a 1 μm	34
Figura 20. Diámetros mayores y menores de control AUP- azul de metileno y muestra BUF- azul de metileno.....	34
Figura 21. BUF observadas por microscopía de luz transmitida.....	36



Resumen

En los últimos años se han hecho grandes esfuerzos para encontrar un método idóneo para la caracterización de burbujas finas (BF) y ultrafinas (BUF). En esta investigación se aplicaron dos tecnologías para la caracterización de las burbujas, dispersión dinámica de la luz (DLS) y microscopía de luz transmitida. La caracterización mediante DLS evidenció la presencia de partículas en suspensión diferentes a las burbujas, sin embargo, se logró demostrar la presencia de estas últimas gracias a las diferencias expuestas entre muestras blanco y muestra de burbujas. En general existió una tendencia al aumento del diámetro de las burbujas a través del tiempo. Un leve cambio de pH no evidenció diferencias significativas en los resultados. Los resultados de potencial ζ (potencial zeta) mostraron un comportamiento errático, pero se comprobó la existencia de burbujas en suspensión cargadas negativamente. Con la caracterización mediante microscopía de luz transmitida, se descubrió la existencia de burbujas finas y ultrafinas presentes de forma natural en la muestra control AUP-Azul de metileno, de las cuales el 98% correspondieron a diámetros menores a 1 μm . Por otro lado se encontró una mayor concentración de burbujas en la muestra BUF- azul de metileno, de las cuales el 94% correspondieron a diámetros menores a 1 μm . Las aplicaciones de BF y BUF que se han reportado en los últimos años, en diferentes ámbitos de la ciencia, son extrapolables al área agroindustrial.

Abstract

In recent years, great efforts have been made to find an ideal method for the characterization of fine bubbles (FB) and ultrafine bubbles (UFB). In this investigation, two technologies were applied to characterize the bubbles: dynamic light scattering (DLS) and transmitted light microscopy. The characterization by using DLS evidenced the presence of another particles in suspension other than bubbles, however, it was possible to demonstrate the presence of the FB and UFB, thanks to the differences between blank samples and bubble samples. In general, there was a tendency to increase the diameter of the bubbles over time. A slight change in pH did not show significant differences in the results. The ζ potential (zeta potential) results, showed erratic behavior, but the existence of negatively charged suspended bubbles was verified. By using transmitted light microscopy, the existence of FB and UFB, naturally found in the UPW-Methylene blue control sample was discovered, of which 98% corresponded to diameters less than 1 μm . On the other hand, a higher concentration of bubbles was found in the UFB-Methylene blue sample, of which 94% corresponded to diameters less than 1 μm . The applications of BF and BUF that have been reported in recent years, in different areas of science, can be extrapolated to the agro-industrial area.

1. INTRODUCCIÓN

En países más desarrollados del mundo, el 15% de los ingresos nacionales se generan a partir de agroindustrias y cubre un área amplia de actividades de postcosecha, empaquetamiento de materias primas agrícolas, tecnologías de procesamiento, fabricación, transformación y mejora de productos derivados del sector agrícola, pecuario, forestal y pesquero (Planella & Labbé, 1976; UNDP, 2012; Egbuna et al., 2013). La industria agroalimentaria es una parte vital de la economía y crecimiento de cualquier país y el sector del agroprocesamiento es sin duda el componente más significativo de esta industria.

El desafío de alimentar a la creciente población mundial, que se espera que llegue a 9 mil millones de personas en 2050 (Olaoye, 2014), requiere nuevas estrategias de procesamiento, aplicación de nuevas tecnología que nos permitan optimizar recursos, garantizar una seguridad alimentaria sostenible y equitativa, además de reducir el impacto ambiental del sistema alimentario de manera urgente (Godfray et al., 2010).

En respuesta a estos desafíos, es que la agroindustria está en constante evolución. Los cambios en los gustos de los consumidores y la necesidad de producir alimentos seguros y de alta calidad son factores que han impulsado los cambios en los procesos alimentarios establecidos o del desarrollo de nuevas tecnologías de fabricación, procesamiento y envasado. En este sentido, la introducción de nuevas tecnologías podría conducir a una reducción del tiempo de procesamiento, ahorro de

energía, mejorar la vida útil y la calidad de los productos alimenticios (Chemat et al., 2011).

Las nanociencias y nanotecnologías han tenido rápidos avances en los últimos años abriendo nuevas perspectivas tanto para sectores industriales y de consumo que han sido considerados como el foco de una nueva revolución industrial (Chaudhry & Castle, 2011). El sector alimentario, aporta más de 4 billones de dólares al año a nivel mundial (Murray, 2007), es un área elemental en estos nuevos desarrollos.

Dentro de las aplicaciones de nanotecnologías relacionadas con los alimentos se encuentran: i) posible reducción en el uso de conservantes, sal, grasa y surfactantes; ii) desarrollo de sabores, texturas y sensaciones de boca nuevos o mejorados; iii) nano formulaciones para mejorar la absorción, biodisponibilidad de nutrientes y suplementos; iv) nano-recubrimientos antibacterianos en las superficies de preparación de alimentos, entre otros (Chaudhry & Castle, 2011).

En los últimos 20 años se han estado investigando las tecnologías de microburbujas (MB) y nanoburbujas (NB) o más recientemente conocidas como burbujas finas (BF) y burbujas ultrafinas (BUF). Las BUF pueden aplicarse en diferentes áreas, entre las aplicaciones más nombradas se encuentran tratamientos de efluentes líquidos, aplicaciones medicinales (Zimmerman et al., 2011), limpieza de superficies (Chen et al., 2009) reducción o eliminación de agentes patógenos (Kawara et al., 2014) y separación de partículas en el área minera (Tao, 2005). Pocos estudios se han enfocado en la posibilidad de ampliar y aplicar BF y BUF en la industria agroalimentaria. Las investigaciones se han centrado principalmente a la búsqueda

de mejorar la eficiencia de los procesos de fase gas-líquido y más recientemente en los métodos de generación, técnicas de medición y caracterización de burbujas (Temesgen et al., 2017).

Uno de los métodos de generación de BF y BUF que surgió en los últimos años es el método GaLF (Gas Liquid Foam) (Maeda et al., 2014). Sin embargo el comportamiento de las burbujas generadas por este método no ha sido ampliamente investigado.

1.1. Hipótesis

Las burbujas finas y burbujas ultrafinas podrían tener un gran potencial de aplicación en el área agroindustrial debido a que poseen gran superficie de contacto, alta presión interna, alta disolución de gases, tamaños micro y nanométricos y alta estabilidad en el medio, características que podrían verse alteradas con el paso de los días y con la variación de pH al momento de generar las burbujas por método GaLF.

1.2. Objetivos

Objetivo general

Evaluar el proceso de generación y caracterización de burbujas finas y burbujas ultrafinas, en medio acuoso y visualizar potenciales aplicaciones en el área agroindustrial.

Objetivos específicos

- Estudiar el efecto del pH en el tamaño, potencial ζ y estabilidad de burbujas finas y ultrafinas mediante su caracterización por dispersión dinámica de la luz.
- Caracterizar las burbujas finas y ultrafinas mediante análisis de imágenes obtenidas por microscopía de luz transmitida.
- Revisar actuales y potenciales aplicaciones de las burbujas finas y ultrafinas en la agroindustria.



2. DEFINICIÓN

Las burbujas ultrafinas (BUF) o también llamadas nanoburbujas (NB) se definen como burbujas con diámetros menores a de 1 μm y más grandes que 1 nm. La característica más distintiva de estas, es la gran estabilidad que poseen, que es la consecuencia de dos aspectos importantes: la disminución de la fuerza flotante y la presencia de fuerzas repulsivas de tales burbujas entre sí (Zimmerman et al., 2011). Son un excelente medio de transporte para diferentes gases como el oxígeno (O_2) (Chiba & Takahashi, 2007), dióxido de carbono (CO_2) (Zhang et al., 2008), ozono (O_3) (Hu & Xia, 2018), nitrógeno (N_2) (Kameda et al., 2008) entre otros, propiedad que junto a la estabilidad que poseen, hacen que la aplicación de esta tecnología sea una alternativa de gran eficiencia para aquellos procesos que requieran la adición de ciertos gases.

2.1. Terminología y clasificación

Actualmente existe una discusión en cuanto a la terminología, popularmente se conocen como NB y es así como las mencionan la mayoría de los investigadores. Sin embargo si buscamos por el término BUF, la información es escasa. El término NB es amplio y presenta diferentes definiciones, Marui, (2013) y Li et al., (2014) definen a las NB simplemente como burbujas de escala nanométrica, mientras que Agarwal et al., (2011) las define como pequeñas burbujas con un diámetro menor a 200 nm, por otro lado ISO/TC 229 (nanotecnologías) define Nano a tamaños menores o

iguales a 100 nm. Todo lo anterior genera una confusión en cuanto a la terminología, es por eso que con el fin de estandarizar lo relacionado a esta tecnología, en junio de 2017 el comité técnico 281 de la ISO (ISO/TC 281) publicó los principios generales para el uso y la medición de BF, donde las define y las clasifica como burbujas con diámetros iguales o menores a 10 μm (10.000nm), encontrándose dentro de esta categoría, las BUF que corresponden a burbujas con diámetros iguales o menores a 1 μm (1000nm). Más recientemente Kim et al., (2019) define a las NB con los mismos parámetros de las BUF, pero menciona que el término más académicamente correcto es "burbuja submicrométrica". En este estudio se considerará correcta la siguiente clasificación: BF o MB corresponderán a burbujas menores a 10 μm y BUF o NB a burbujas menores a 1 μm .

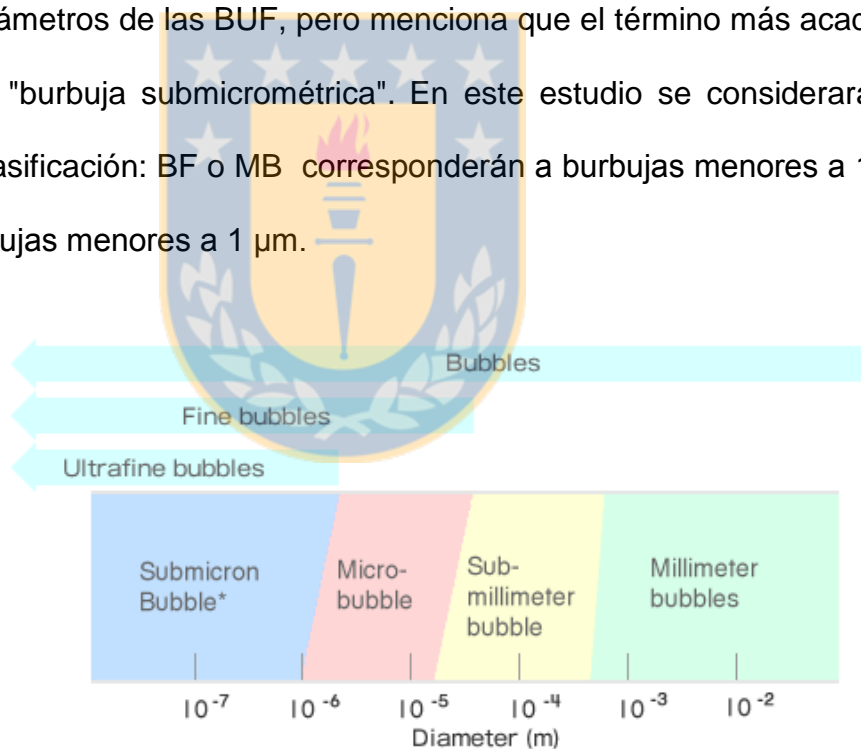


Figura 1. Tamaños y clasificación de burbujas (IDEC, 2017).

3. CARACTERÍSTICAS

La teoría clásica dicta que las pequeñas burbujas gaseosas se disuelven rápidamente en cuestión de microsegundos después de su formación, debido a que existe una gran presión al interior de la burbuja que causa un flujo de gas difusivo (Matsumoto & Tanaka, 2008; Brenner & Lohse 2008). Chiba & Takahashi, (2007) y Li et al., (2009) señalan que, cuanto más pequeña es la burbuja, mayor es la presión interna y por ende mayor es la eficiencia de la disolución de O₂, por lo que su existencia se vuelve inestable y la burbuja desaparece al instante.

Esto puede ser explicado en parte por la ecuación de Young-Laplace, que expresa la relación entre presión y diámetro:

$$P = P_l + \frac{4\sigma}{d_b} \quad (1)$$

Donde P es la presión del gas dentro de la burbuja, P_l es la presión del líquido, σ es la tensión superficial del líquido y d_b es el diámetro de la burbuja.

Según la ecuación (1), la presión del gas interior aumenta a medida que el diámetro de la burbuja disminuye (Li et al., 2009), lo que indicaría que una burbuja de 1 μm de diámetro presenta una presión aproximadamente de 390 kPa a 298°K, que es alrededor de cuatro veces la presión atmosférica (Agarwal et al., 2011).

De igual manera señala que para una burbuja de diámetro de 100 nm, la presión es de aproximadamente 1500 kPa en agua pura. Así, una BUF a granel se disuelve

inmediatamente en el agua circundante y desaparece por completo. Por otro lado, la eficiencia de la disolución de O_2 puede ser explicada por la ley de Henry, que indica que a una temperatura constante, la cantidad de gas disuelto en un líquido es directamente proporcional a la presión que ejerce ese gas sobre el líquido (Manahan & Leyva, 2006). Es decir, para el caso de una burbuja, la cantidad de gas disuelto que la rodea, aumenta con el aumento de la presión del gas en el interior de la burbuja (Agarwal et al., 2011).

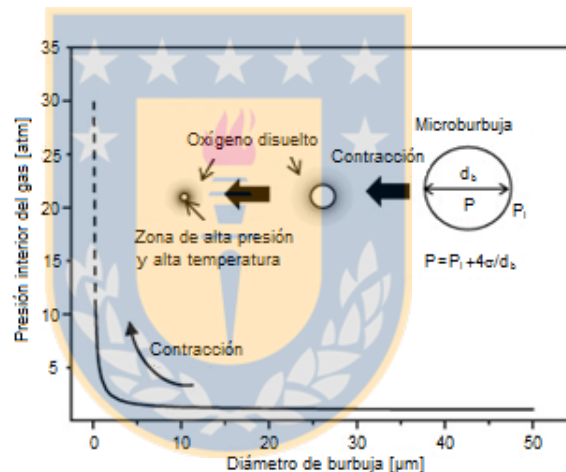


Figura 2. Aumento de la presión del gas interior de las MB durante la contracción a 298 °K, 100 kPa (Adaptado de Li et al., 2009).

Todo lo anterior se contradice con una de las principales características que mencionan algunos autores sobre las BUF, como por ejemplo la alta estabilidad que presenta en el medio líquido (Azevedo et al., 2016). Según Kobayashi et al., (2014a) las BUF pueden permanecer en el agua durante meses después de la generación, a diferencia de las burbujas de mayor tamaño, que normalmente suben a la superficie del agua y colapsan en pocos minutos. Existen diferentes teorías al respecto; Tolman

(1949) calculó teóricamente la tensión superficial de la gota y concluyó que la tensión superficial disminuye al disminuir el tamaño de la gota. Por lo tanto, se podría dilucidar que la presión interna de una NB es menor que la predicha por la ecuación de Young-Laplace cuando se supone una tensión superficial constante. De igual manera Nagayama et al., (2006), demuestra mediante una simulación dinámica molecular que hay pocos átomos de vapor dentro de la NB y por ende la presión interna de la NB es mucho menor que la obtenida por la ecuación de Young-Laplace. Por otro lado es bien sabido que la superficie de una burbuja sumergida en una fase acuosa se carga porque los iones se adsorben en la interfaz gas-líquido. En el caso de una NB de O_2 , éstas cargas eléctricas están presentes de una manera significativamente concentrada, de modo que la fuerza de repulsión electrostática, afecta la distribución espacial de los iones en la solución, lo que lleva a la formación de una doble capa eléctrica que inhibe la contracción y coalescencia de las burbujas. La intensidad de la doble capa eléctrica a menudo se evalúa utilizando el potencial ζ (potencial zeta). En el caso de las BF y BUF el potencial ζ es generalmente negativo debido a la adsorción de iones OH^- a la interfaz de las burbujas. Por lo tanto, la tendencia de los iones H^+ a permanecer en la fase de agua es alta exponiendo los iones OH^- a la fase gaseosa (Takahashi, 2005; Chiba & Takahashi, 2007; Calgaroto et al., 2015; Temesgen et al., 2017) (Figura 3). En concordancia a lo anterior el valor del potencial ζ se ve afectado por el cambio de pH, a medida que este aumenta, el potencial ζ disminuye (más negativo) ya que la adsorción de OH^- en la interfaz líquido gas conduce al desarrollo de un fuerte potencial ζ negativo (Kim et al., 2019).

Igualmente Wu et al., (2012) señala que este valor en NB en presencia de surfactantes es altamente dependiente del pH, y se vuelve cada vez más negativo con su aumento.

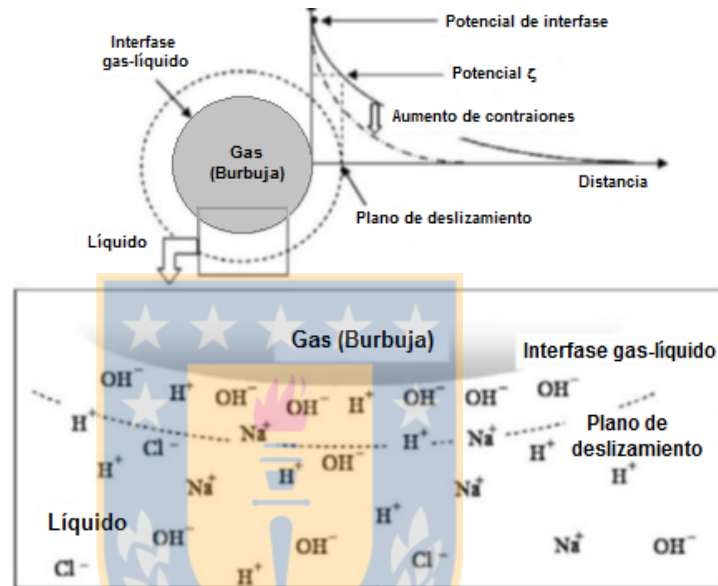


Figura 3. Interfaz gas-líquido y el potencial ζ (Adaptado de Takahashi, 2005).

Un alto valor de potencial ζ , puede estar relacionado con la estabilidad de las burbujas, explicado por las fuerzas de repulsión generadas por las superficies de burbujas cargadas eléctricamente (Ushikubo et al., 2010a).

Otra de las características de las BUF es su gran superficie de contacto. Se puede calcular que la superficie (S) por unidad de volumen (V) de una burbuja es inversamente proporcional al radio de la burbuja (r) usando las ecuaciones:

$$S = 4 \pi r^2 \quad (2)$$

$$V = \frac{4\pi r^3}{3} \quad (3)$$

$$\frac{S}{V} = \frac{3}{r} \quad (4)$$

Por lo tanto, una burbuja con un radio de 1 μm tiene 1000 veces la superficie específica de una burbuja convencional con un radio de 1 mm (Li et al., 2014).



4. GENERACIÓN DE BF Y BUF

Varias empresas en Canadá, Japón, Corea del Sur, EE. UU., y otros han afirmado haber generado BUF por diferentes métodos, estos incluyen disolución presurizada, cámaras de cavitación, planos de corte, electrólisis y fluidos giratorios en una cámara de mezcla (Kim et al., 2019). Otros autores también mencionan métodos tales como formación de burbujas mediante cuchillas giratorias o cizallamiento (Tuziuti et al., 2017) y suministro de gas a través de poros finos (Kukizaki & Goto, 2006), sin embargo según Marui, (2013), con este último método, es difícil generar burbujas de menos de 50 μm de diámetro de manera eficiente, porque cuando se inyectan burbujas de aire bajo presión a través de los poros, se expande el volumen de cada una de ellas, aumentando el diámetro a varios milímetros debido a la tensión superficial de las burbujas de aire durante la inyección. Además, existen otros problemas como la obstrucción de los poros (Takahashi et al., 2003).

Una de las más mencionadas es la cavitación hidrodinámica, que se produce debido a las variaciones de presión en el líquido que fluye (Jyoti & Pandit, 2001; Tao, 2005; Agarwal et al., 2011; Wu et al., 2012; Yasui et al., 2019; Zhou et al., 2019).

Durante los últimos años se ha desarrollado una nueva tecnología llamada ultrafine GaLF (Gas Liquid Foam) la cual se basa en la cavitación hidrodinámica. En el sistema GaLF (Figura 4), inicialmente el líquido se bombea a la unidad de inyección del sistema. El líquido bombeado pasa a través de un Venturi, que acelera su flujo y reduce la presión a menos de una atmósfera (1). En una unidad de aspiración, el líquido absorbe gas y forma un flujo multifásico. El gas se inyecta en el aspirador

para lograr una tasa estable de adición de gas (2). La presión del flujo multifásico se vuelve alta, porque la velocidad del flujo disminuye en la unidad de presurización (3). Las burbujas generadas después de la presurización son eliminadas por la unidad de descarga (4). En la unidad de descarga, la presión sobre el líquido se reduce a una atmósfera. El fluido está entonces sobresaturado y libera burbujas. Este sistema puede generar una población densa de más de 10^9 BUF por mL (Maeda et al., 2014).

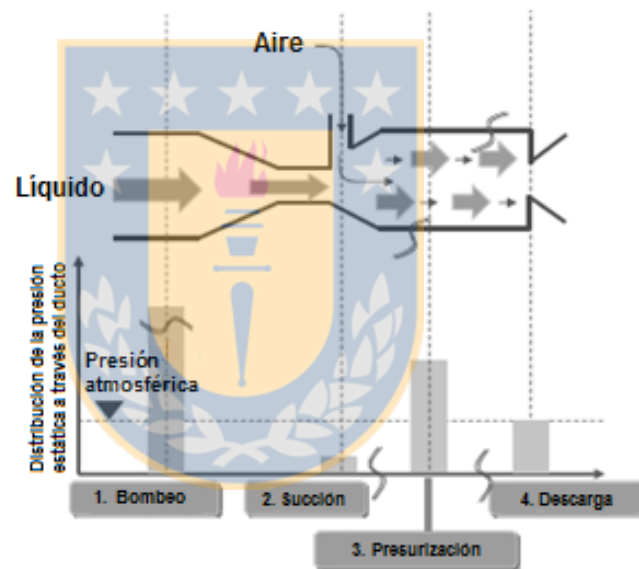


Figura 4. Modelo teórico del método GaLF (Adaptado de Maeda et al., 2014).

5. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

Debido al tamaño que poseen las BUF es que la observación y medición de estas resulta compleja. Dentro de las investigaciones existentes se mencionan: Microscopía electrónica (Matsuki et al., 2012; Azevedo et al., 2016), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) con el método de réplica fracturada por congelación (Uchida et al., 2011). Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con una congelación previa de la estructura interna o la estructura interfacial de las BUF. (Ohgaki et al., 2010). Microscopía de fuerza atómica (An et al., 2015), difracción láser, análisis de seguimiento de partículas y Dispersión Dinámica de Luz (DLS) (Xu et al., 2019). El método DLS consiste en un haz de luz monocromática, tal como un láser, que detecta diferencias en el movimiento browniano de las partículas como fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersada por las partículas, cuando la luz llega a la partícula en movimiento, cambia la longitud de onda de la luz entrante. Este cambio está relacionado con el tamaño de la partícula. (Deckers et al., 2011; Kobayashi et al., 2014b; Kim et al., 2019; Xu et al., 2019).

Por otro lado, los equipos que realizan este método emplean una técnica de microelectroforesis por láser Doppler mediante la cual se aplica un campo eléctrico a la dispersión de las burbujas que migran a una velocidad que depende del potencial ζ . Esta velocidad se mide mediante un análisis de fase de dispersión de luz, que permite el cálculo de la movilidad electroforética que posteriormente se convierte en un potencial ζ (medido en milivoltios), de acuerdo con la ecuación de Smoluchowski (Calgaroto et al., 2015).

$$\zeta = \mu\eta/\varepsilon \quad (5)$$

Donde ζ es el potencial ζ (mV), μ es la movilidad electroforética ($\text{m}^2 \text{s}^{-1} \text{V}^{-1}$), η es la viscosidad del agua ($\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-1}$) y ε es la permitividad de agua ($\text{J V}^{-2} \text{cm}^{-1}$) (Kim et al., 2000).



6. METODOLOGÍA

6.1. Preparación de las muestras

Se utilizó agua ultra purificada (AUP) con el fin de minimizar el número de partículas de fondo detectadas (Maeda et al., 2014). El alto nivel de pureza del agua es importante para garantizar que el potencial ζ medido en el agua no se vea afectado por impurezas (Ushikubo et al., 2010b).

El pH del agua se ajustó a 6, 7 y 8, valores aceptados en agua potable en Chile (INN, 2005). Lo anterior se realizó mediante la adición de soluciones buffer preparadas con NaH_2PO_4 mono hidratado y Na_2HPO_4 di hidratado de Merck. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente (20°C). Se consideró un control AUP y muestras blanco: blanco pH 6, blanco pH 7 y blanco pH 8.

6.2. Generación de BF y BUF



Figura 5. Generador de BUF miniGaLF. (www.acniti.com)

Se generaron burbujas mediante equipo miniGALF ultrafine de IDEC, modelo FZ1N-04M, tamaño en cm: 17,5 (ancho) 32 (largo) 14,2 (alto). Facilitado por ULTRAFB, división de SANDIMAN S.A, representantes oficiales de IDEC en Chile. Se utilizó O₂ industrial como gas para el sistema.

El equipo posee flujo de 7.5 L min⁻¹ de agua con BUF y trabaja a 2 bar de presión.

6.3. Caracterización de BF y BUF mediante DLS



Figura 6. Analizador de partículas Zetasizer Nano ZS. (www.malvernpanalytical.com)

Se realizó una caracterización de BF y BUF mediante la determinación de diámetro y potencial ζ . Se utilizó el método DLS a través de analizador de partículas Zetasizer Nano ZS de Malvern Panalytical que posee un rango de medición de 1 nm – 10 μ m (Figura 6), facilitado por el Departamento de Ingeniería en Alimentos de la Universidad del Bío Bío, Chillán, Chile. Las muestras fueron analizadas en triplicado a diferentes tiempos de evolución, similares a los de Maeda et al., (2014): 0, 2, 4, 8, 15, 30 y 50 días.

6.4. Caracterización de BF y BUF mediante análisis de imágenes

Se obtuvieron imágenes a través de microscopio marca Zeiss modelo Axioplan 2 con contraste de fase y lente objetivo 1000x, acoplado con cámara digital microscópica marca Nikon modelo DXM1200.

Las muestras se obtuvieron mediante la generación de BUF con AUP acondicionada a pH 7 a la que le añadió azul de metileno como medio de contraste (Azevedo et al., 2016). Se consideró una muestra control de AUP con azul de metileno. Las muestras fueron analizadas aproximadamente a 3 horas de su generación.

Con el fin de comprobar la existencia de BUF, se realizó un análisis de imágenes en software MatLab.

6.5. Análisis estadístico

Para el caso de la determinación de diámetro y potencial ζ , se realizó un análisis estadístico mediante la prueba de Scheffé (95% confianza) para hacer comparaciones múltiples de las medias de los grupos con diferente cantidad de repeticiones.

En el caso del análisis de imágenes se realizó la prueba "t" de Student (95% de confianza) para determinar si existía una diferencia significativa entre las medias de las dos muestras (control y muestra).

Las pruebas se realizaron mediante el uso del software IBM SPSS Statistics.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Caracterización de BF y BUF mediante DLS

7.1.1. Distribución de tamaño de AUP, BF y BUF a distintos pH

En el control de AUP (Figura 7), se registra un solo peak de tamaño, que varía en diámetros de 35 a 100 nm aproximadamente, con un diámetro promedio de 59 nm. A pesar de haber utilizado AUP en el sistema, es inevitable que se adhieran algunas partículas a la solución mediante la manipulación de estas.

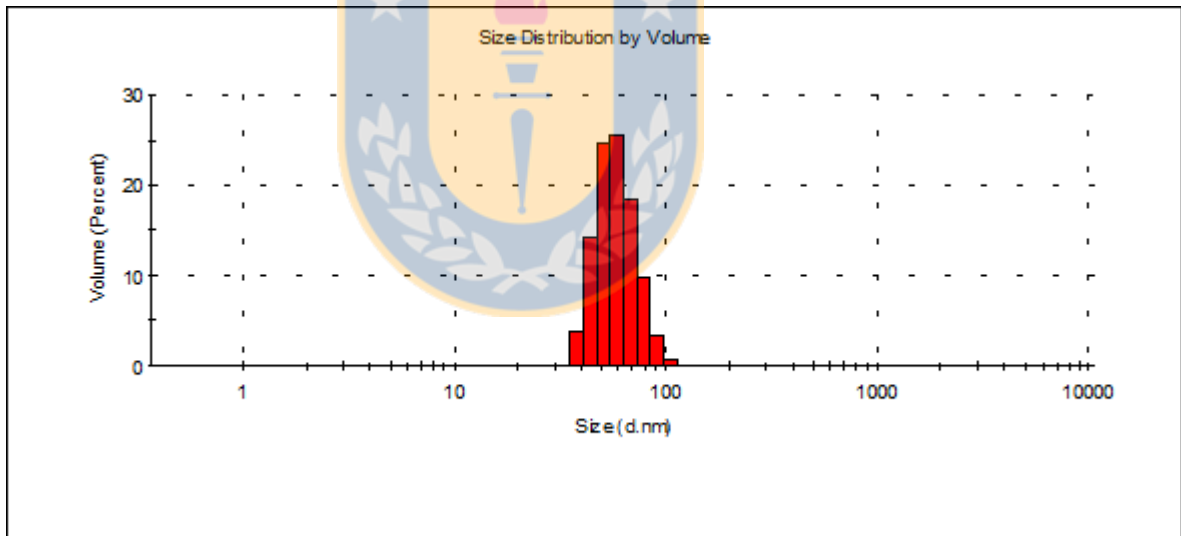


Figura 7. Distribución de tamaño de partículas en AUP (control). Fuente: Elaboración propia.

En el blanco de la solución acondicionada a pH 6 (Figura 8), se registra un solo peak de tamaño, que varía en diámetros de 50 a 100 nm aproximadamente, con un diámetro promedio de 74 nm.

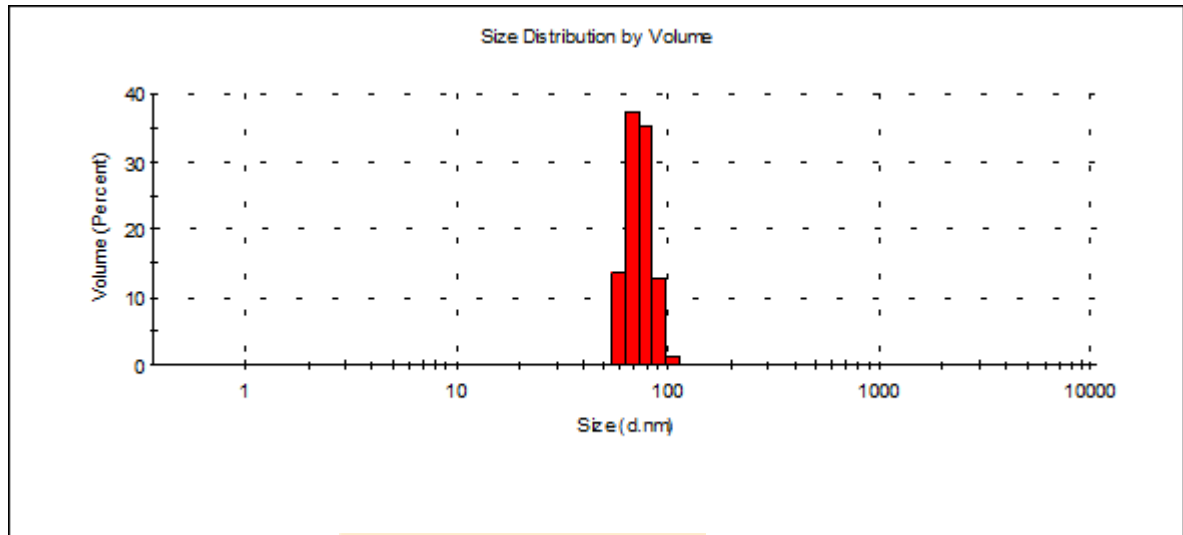


Figura 8. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 6 (blanco). Fuente: Elaboración propia.

En la muestra de agua con burbujas acondicionadas a pH 6 correspondientes al día 0 (Figura 9), se observan dos peaks, uno que comprende diámetros desde los 200 a 600 nm aproximadamente, equivalente al 79% de la muestra con un diámetro promedio de 330 nm. El segundo peak presenta diámetros desde los 40 a 100 nm con un diámetro promedio de 61 nm. Podemos asumir que el peak más pequeño corresponde a partículas en suspensión como se observa en la Figura 8 y el más grande a BUF ya que este peak no se presenta en el control.

En el blanco de la solución acondicionada a pH 7 (Figura 10), se registra un solo peak de tamaño que varía en diámetros de 80 a 2500 nm aproximadamente, con un diámetro promedio de 674 nm. En este caso se observa gran distribución de tamaños de partículas, evidenciado por el ancho del peak.

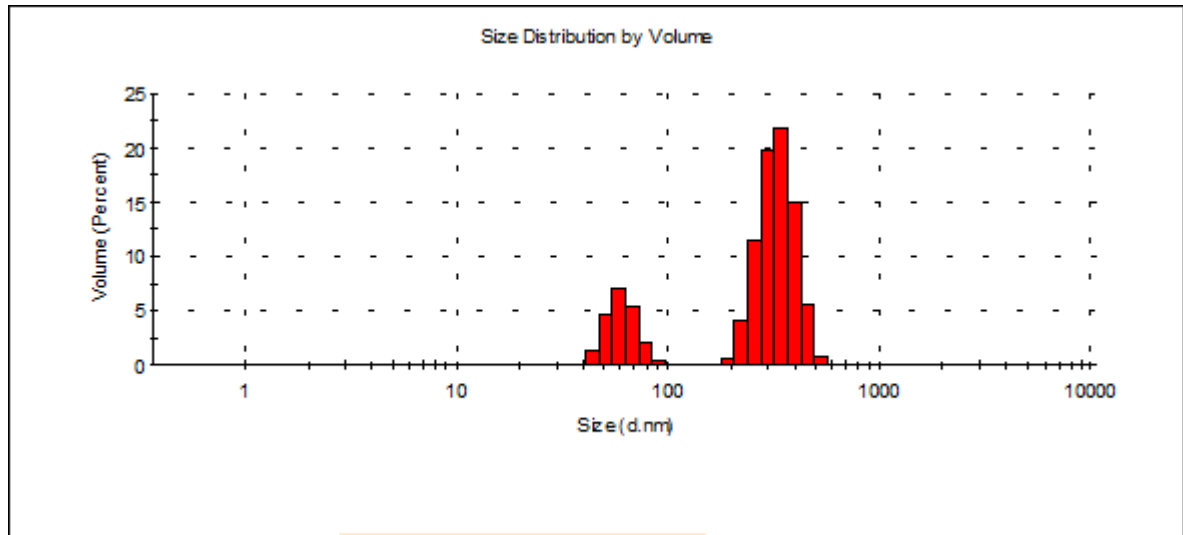


Figura 9. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 6, día 0. Fuente: Elaboración propia.

En la muestra de agua con burbujas acondicionadas a pH 7 correspondientes al día 0, se observan dos peaks, uno que comprende diámetros desde los 250 a 6000 nm aproximadamente equivalente al 97% de la muestra, con un diámetro promedio de 2109 nm, este peak puede representar tanto a partículas en suspensión como a burbujas. El segundo peak presenta diámetros desde los 50 a 200 nm con un diámetro promedio de 114 nm. Podemos asumir que el peak mas alto corresponde a partículas en suspensión como se observa en la Figura 11 y el peak de menor porcentaje correspondería tanto a partículas como a burbujas.

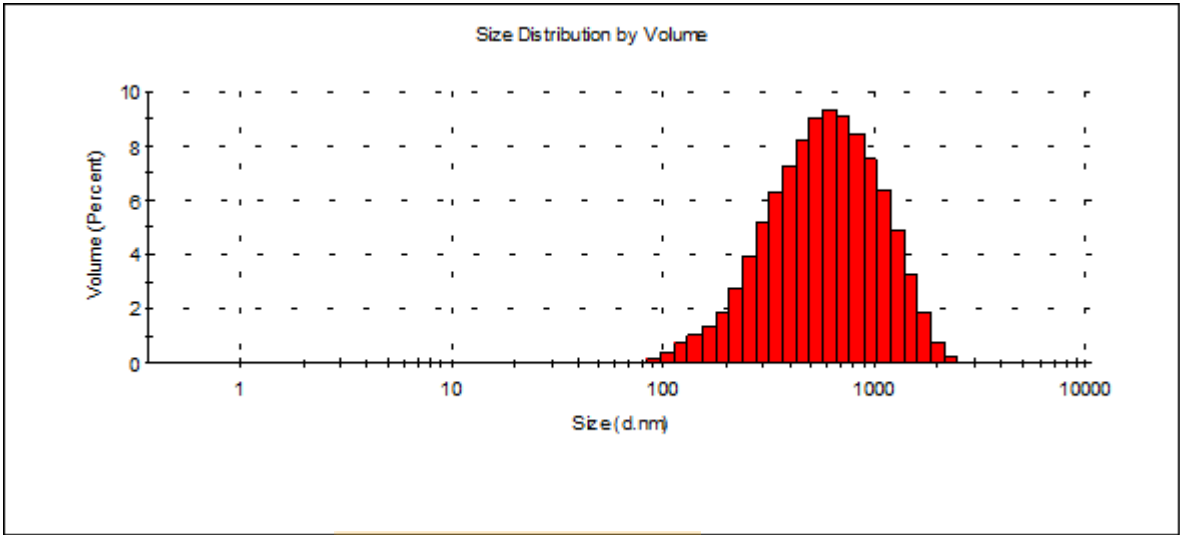


Figura 10. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 7 (blanco). Fuente: Elaboración propia.

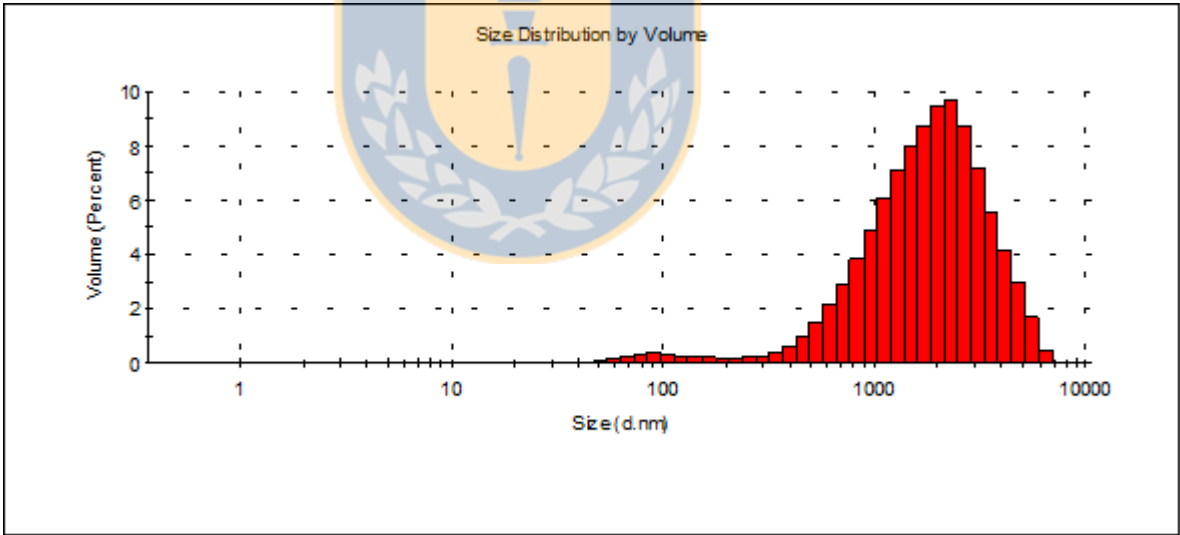


Figura 11. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 7, día 0. Fuente: Elaboración propia.

En el blanco de la solución acondicionada a pH 8 (Figura 12), se registran 2 peaks, ambos correspondientes al 50% de la muestra. El peak del lado izquierdo varía en

diámetros de 100 a 1000 nm aproximadamente, con un diámetro promedio de 439 nm. El peak del lado derecho de la imagen corresponde a diámetros aproximados de 3500 a 7000 nm.

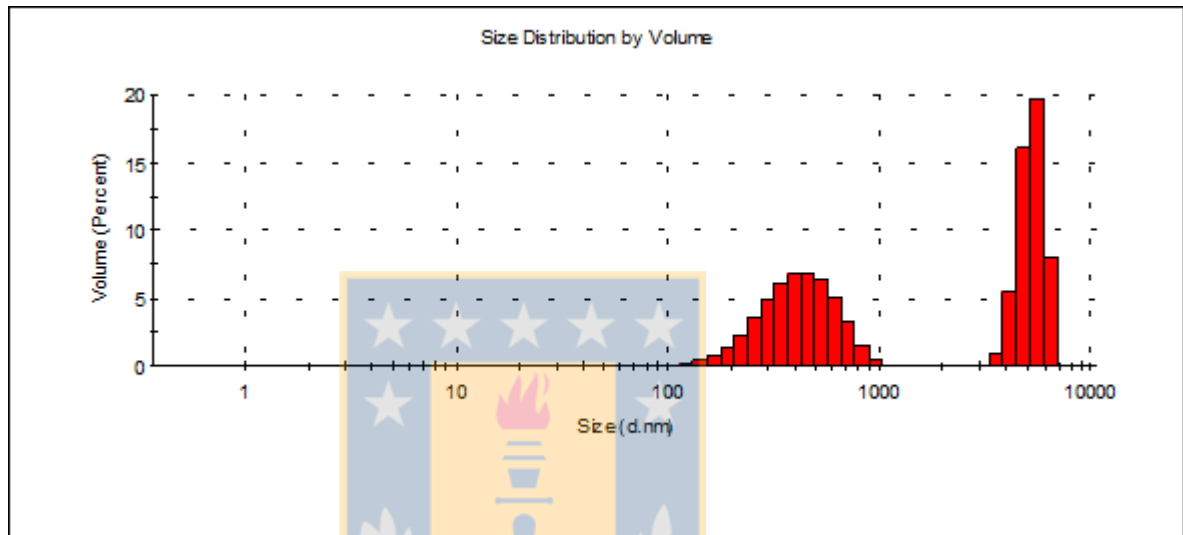


Figura 12. Distribución de tamaño de partículas en AUP, pH 8 (blanco). Fuente: Elaboración propia.

En la muestra de agua con burbujas acondicionadas a pH 8 correspondientes al día 0 (Figura 13), se observan dos peaks, uno que comprende diámetros desde los 200 a 4000 nm aproximadamente equivalente al 84% de la muestra, con un diámetro promedio de 1783 nm. El segundo peak presenta diámetros desde los 4000 a 7000 nm, con un diámetro promedio de 4919 nm. Podemos asumir que desde los 1000 a 3000 nm corresponden a BF, ya que la presencia de estos tamaños no se observan en el control.

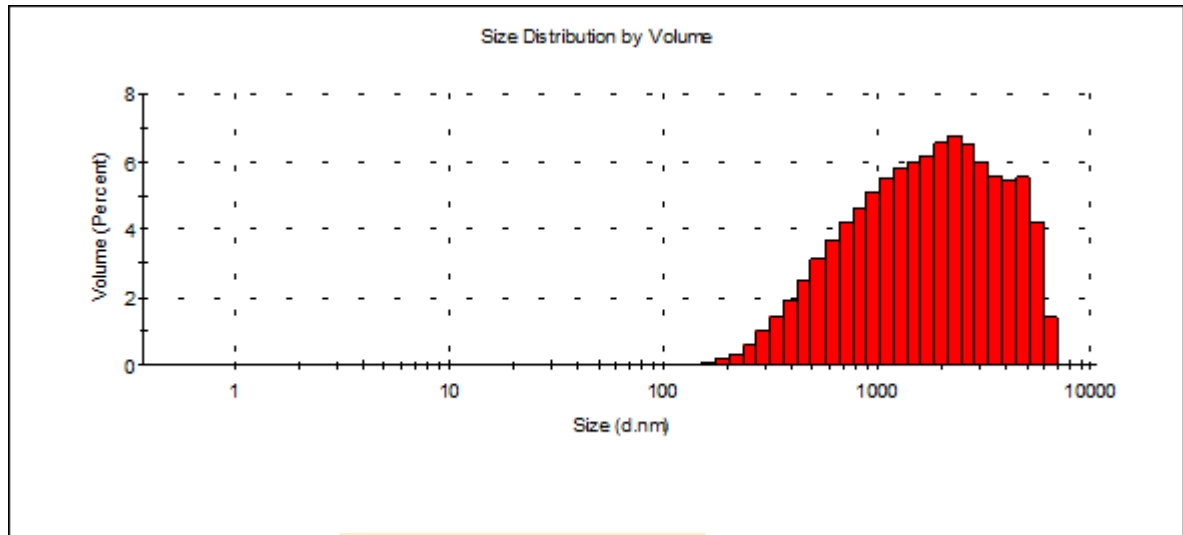


Figura 13. Distribución de tamaño de burbujas-partículas en muestra de agua a pH 8, día 0. Fuente: Elaboración propia.

Los resultados anteriormente expuestos corresponden a los entregados por el software del equipo Zeta Sizer. Se expusieron solo los resultados de los controles y las muestras al día 0 para evidenciar la presencia de partículas en suspensión que no corresponden a burbujas. Se observa una correlación positiva entre el aumento de pH en las muestras control y el tamaño de las partículas en suspensión. Se cree que al añadir las soluciones buffer al AUP quedaron algunas partículas de di NaH_2PO_4 mono hidratado y Na_2HPO_4 di hidratado en la solución, este último posee una menor solubilidad y para aumentar el pH debía añadirse una mayor cantidad de esta base. Las gráficas anteriormente expuestas, son similares a las expuestas por Ahmadi et al., (2014), donde la distribución de tamaño de BF y BUF constan de dos peaks en los rangos de dimensión nano y micro inmediatamente después de su

generación. El tamaño promedio de nano-microburbujas, obtenidas por el autor en ese momento fue de 358 nm.

7.1.2. Tamaño y potencial ζ de BF y BUF a diferentes pH durante el tiempo

A continuación se muestran los resultados promedios tanto de tamaño como de potencial ζ de presuntas burbujas a distintos pH y su evolución en el tiempo. Estos datos fueron obtenidos mediante el uso del equipo Zeta Sizer.

En la Figura 14 se puede observar en general una leve tendencia al aumento del diámetro de las burbujas en los días 15, 29 y 51, a excepción de las muestras a pH 7, que presenta diámetros menores en el día 51.

En el caso particular de las muestras a pH 6 se observa claramente como aumentan los diámetros de las burbujas a través de los días, con una excepción en el día 3, que presenta una media de 71,6 nm. Sin embargo, a pesar de mostrar esta tendencia al aumento del tamaño de las burbujas en el tiempo, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las burbujas a otros pH, debidos a la gran desviación que presentan los datos obtenidos.

A pH 7, el tamaño de las burbujas no mostró una tendencia definida en el tiempo, más bien presentó un comportamiento errático. Para el día 0 exhiben un diámetro promedio de 1051,8 nm y posteriormente disminuye hasta el día 8 a 308,5 nm; Luego en los siguientes días se presentan aumentos hasta el día 29 (1584 nm) para posteriormente disminuir nuevamente en el día 51 a un diámetro promedio de 294,2

nm. Al igual que en el caso anterior, las diferencias no son estadísticamente significativas.

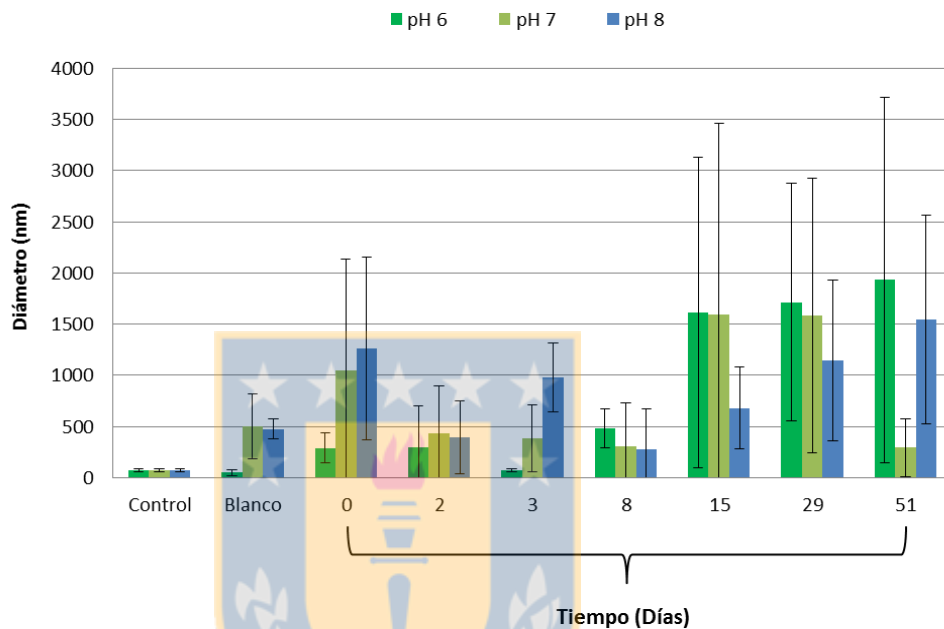


Figura 14. Evolución del diámetro de burbujas a diferentes pH durante el tiempo.
Fuente: Elaboración propia.

Asimismo, a pH 8 presentan un comportamiento similar que a pH 7, en el día 0 se observa un diámetro promedio de 1264,8 nm donde posteriormente en el día 2 disminuye a 391,9 nm, luego vuelve a aumentar en el día 3 a 977,8 nm y el día 8 existe nuevamente una baja a 281,3 nm. En los días siguientes se revela un aumento hasta el día 51 con un diámetro medio de 1544,5 nm. Existen solo diferencias estadísticamente significativas entre los diámetros del día 8 y los del día 51.

En la comparación entre pH, en el caso de los blancos se observan diferencias significativas entre el pH 6 (48,7nm) y los siguientes, no así entre el pH 7 (498,3nm) y

pH 8 (474,3nm). Lo anterior pudo verse afectado por los cristales de las soluciones buffer que probablemente no se disolvieron completamente considerando que la técnica de medición es sensible a cualquier partícula en suspensión que se encuentre entre el rango de 1 nm – 10 μ m.

En el día 0 se observa una correlación positiva entre el aumento del pH y los diámetros, pH 6: 290,4 nm; pH 7: 1051,8 nm; pH 8: 1264,8 nm. Sin embargo, estas diferencias no son significativas. Asimismo, en el día 3 se observa el mismo comportamiento, pH 6: 71,6 nm; pH 7: 382,5 nm; pH8: 977,8 nm. En este caso solo los diámetros a pH 6 y pH 7 no tienen diferencias estadísticamente significativas entre sí.

Al día 2 se presentan diámetros medios de 301,6 nm, 436,7 nm y 391,9 nm respectivamente. Tampoco se observan diferencias significativas.

En los días 8 y 15 se observa una tendencia a la disminución del diámetro con el aumento del pH, (día 8: pH 6: 486,3 nm; pH 7: 308,5 nm; pH 8: 281,3 nm; día 15: pH 6: 1615,1 nm; pH 7: 1598,1 nm; pH 8: 681,0 nm) sin embargo no existen diferencias significativas. Adicionalmente en el día 29 se observa el mismo efecto de disminución (pH 6: 1713,7 nm; pH 7: 1584,0 nm; pH 8: 1147,0 nm) pero si existen diferencias entre el pH 6 y los subsiguientes, no así entre el pH 7 y pH 8.

En el día 51 se presentaron diámetros promedios de 1931,2 nm, 294,2 nm y 1544,5 nm respectivamente. Pareciera que los resultados experimentan el mismo comportamiento que los días 8, 15 y 29, pero en el pH 7 se presenta una disminución

del diámetro, que se especula que podría ser un error experimental. No existen diferencias significativas entre el pH 6 y pH 8.

En general, se observa que las desviaciones estándar de los blancos no son tan extensas como la de las muestras a través de los días, esto nos da indicios de que a pesar de que evidentemente existen otras partículas que difieren de las burbujas, hay un mayor volumen de otras partículas de diferentes tamaños que no se presentan en los blancos y que posiblemente sean BF y BUF. Por otra parte, se observa que desde el día 15 la variabilidad de datos aumenta más aún que los días anteriores. Esto podría indicarnos que al inicio las burbujas generadas son más estables y uniformes y con el transcurso de los días ocurren diferentes fenómenos de desestabilización. Otros investigadores indican en sus publicaciones, que las burbujas más grandes colapsan rápidamente, esto debería verse reflejado en la Figura 14 con una disminución del volumen de partículas de gran tamaño, pero no es así, esto puede deberse a la coalescencia de algunas burbujas que aún se encuentran en suspensión (Ahmadi et al., 2014), o a la adherencia de partículas hidrófobas en la superficie de las burbujas que pudiera haber alterado la medición, identificándolas como partículas de mayor tamaño (Yasui et al., 2016; Yasui et al., 2018; Yasui et al., 2019). Lo anterior junto con la permanencia de las burbujas de menor tamaño, podría ser la respuesta a la gran variabilidad de datos que se presentan.

En el caso del potencial ζ (Figura 15) podemos observar la evidente presencia de partículas en suspensión en las muestra control, que indica potenciales negativos de

alrededor de -11 mV. Este resultado confirma también la presencia de partículas diferentes a las burbujas.

A pH 6 en general no hay una tendencia clara en el comportamiento del potencial ζ de las partículas-burbujas. Los potenciales ζ oscilan a través de los días entre -7 a -13 mV sin diferencias estadísticamente significativas.

Por otra parte la muestra control a pH 7 presenta un potencial ζ cercano a 0 (punto isoeléctrico). Esto no es raro ya que se trata de pH neutro. En el resto de los días tampoco se observa una tendencia clara. En el día 3 se observa un peak de -20,4 mV, el cual difiere significativamente con el resto de los resultados.

A pH 8 en general presenta los potenciales ζ más bajos (en valor absoluto). Curiosamente esto es una contradicción ya que es bien sabido que al aumentar el pH existe un aumento de los iones OH^- , lo que otorgaría más negatividad con el aumento del pH. Es así como lo indica Najafi et al., (2007) mencionando que el potencial ζ en valor absoluto aumenta con el aumento del pH, alcanzando una meseta de aproximadamente 22-25 mV a pH 8. Esto no se ve en los resultados expuestos en esta investigación, lo que se debe probablemente a que en la mayoría de las investigaciones se aplican tensioactivos para disminuir la tensión superficial, aumentar la estabilidad y por ende el potencial ζ de las burbujas (Wu et al., 2012).

Si bien los valores de potencial ζ no son tan altos como los presentados por otros autores, concuerdan en presentar una carga negativa de las burbujas en suspensión, debido a la absorción de los iones OH^- en la superficie de éstas (Najafi et al., 2007; Temesgen et al., 2017).

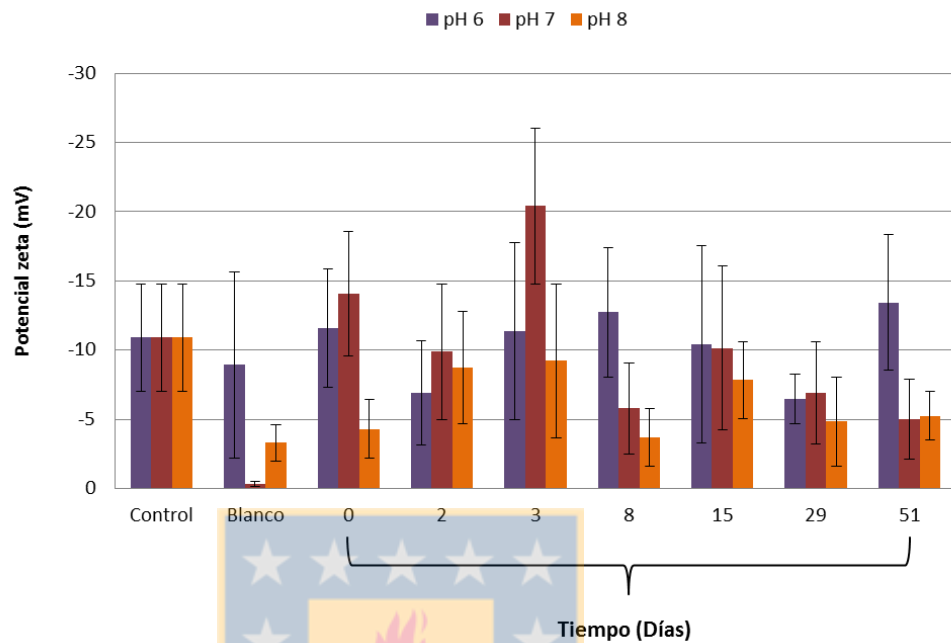


Figura 15. Evolución del Potencial ζ de burbujas a diferentes pH durante el tiempo.
Fuente: Elaboración propia.

Según Takahashi et al., (2007) mientras más pequeña sea la burbuja más negativo será el potencial ζ . En algunos casos no se pudo evidenciar esta correlación. Hay varias teorías al respecto, Temesgen et al., (2017) indican que el método DLS no es capaz de dar resultados consistentes ya que el comportamiento de las nanoburbujas puede diferir del movimiento browniano normal de partículas sólidas en líquidos. Xu et al., (2019) señalan que los dispersores de luz pueden ser cualquier cosa en la muestra que tenga un índice de refracción diferente al del medio. Por otro lado Uchida et al., (2011) encontró que BF y BUF caracterizadas por microscopía de fuerza atómica eran esféricas u ovals, pero existe incertidumbre si la forma puede haberse visto afectada por el aparato de medición. De igual manera, An et al., (2015)

señalan que posiblemente las BUF no son esféricas, existiendo la posibilidad de lo que se observa no sean burbujas a granel sino más bien burbujas de superficie.

Existe una dicotomía en los resultados, por una parte podríamos dilucidar que BF siguen presentes el día 51, pero esto es poco probable sin la presencia de tensioactivos. Esto último se puede explicar debido a que la tensión superficial aire-líquido produce una presión que impulsa la difusión del gas de la burbuja a la fase líquida, esta presión es mayor en el caso de las burbujas más pequeñas según Laplace y las burbujas más grandes crecen a expensas de estas (maduración de Ostwald) (Dressaire et al., 2008). En este caso no se usó surfactantes o tensioactivos que disminuyeran la tensión superficial por lo que las burbujas más pequeñas pueden haber desaparecido al instante y burbujas más grandes coalescieron aumentando su tamaño. Sin embargo la existencia de impurezas hidrofóbicas como partículas de carbono, aceites, grasas, etc., podrían actuar como medios surfactantes disminuyendo la velocidad de difusión del gas y en consecuencia aumentar la estabilidad de las burbujas (Yasui et al., 2016; Yasui et al., 2018; Yasui et al., 2019). Este efecto fue observado por Sugano et al., (2017) a través de microscopía TEM donde una pequeña cantidad de material orgánico se adhirió a la superficie de las BUF y contribuyó a la supresión de la extinción de estas.

7.2. Caracterización de BF y BUF mediante análisis de imágenes.

Las Figuras 16 y 17 corresponden a las muestras control de AUP con azul de metileno. Se detectaron estructuras, presuntamente burbujas de diámetros menores

a 1 μm correspondientes al 98% de la muestra (256 unidades). Las Figuras 18 y 19 corresponden a las muestras de AUP pasadas por el generador ultrafine miniGaLF. Se detectaron estructuras, presuntamente burbujas de diámetros menores a 1 μm correspondientes al 94% de la muestra (488 unidades).



Figura 16. Control AUP-Azul de metileno. Fuente: Elaboración propia.



Figura 17. Control AUP-Azul de metileno, Burbujas menores a 1 μm . Fuente: Elaboración propia.

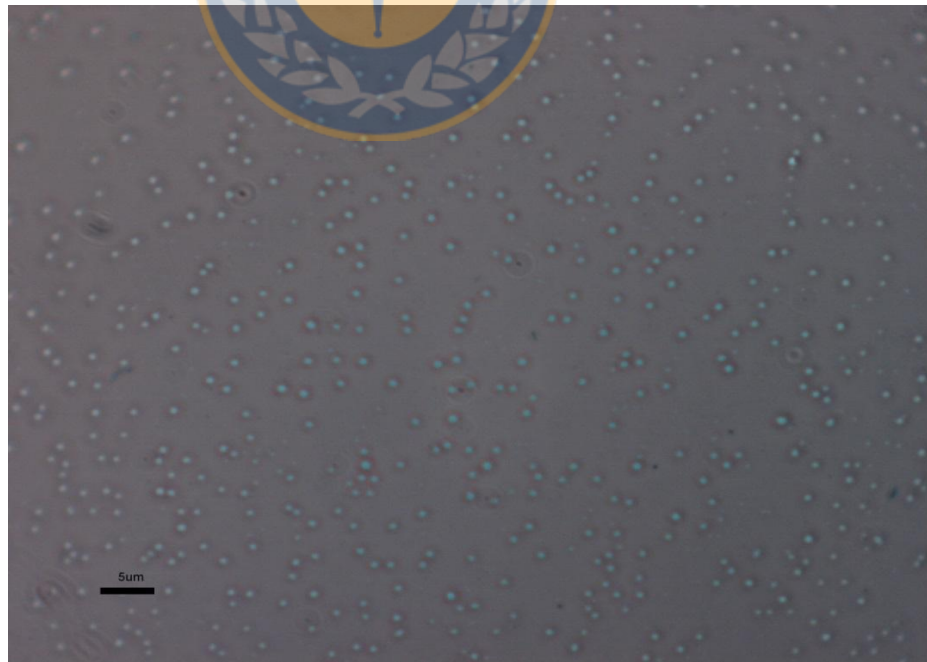


Figura 18. Muestra de agua con burbujas con azul de metileno como medio de contraste. Fuente: Elaboración propia.

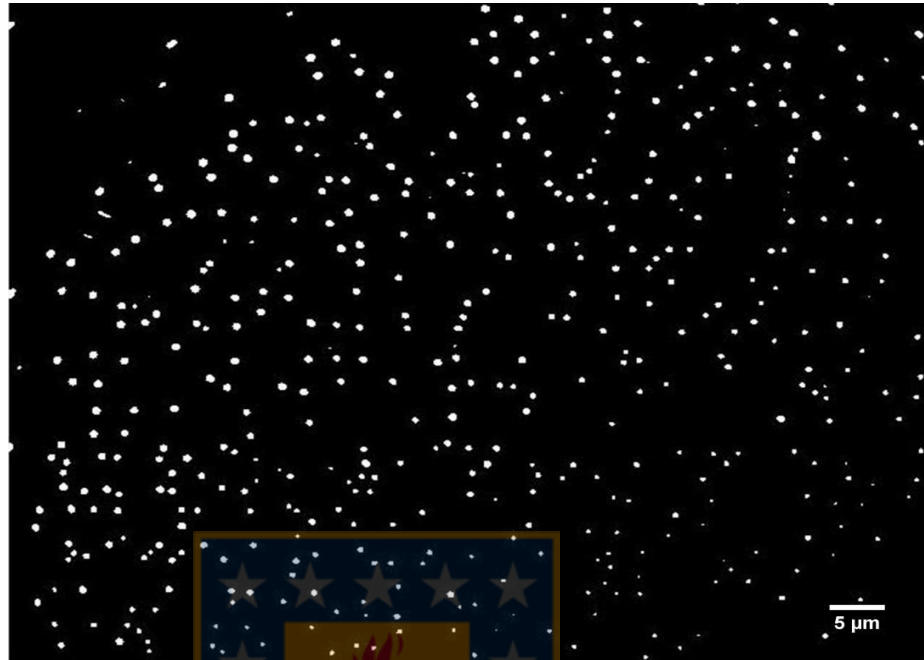


Figura 19. Muestra de agua con burbujas menores a 1 μm . Fuente: Elaboración propia.

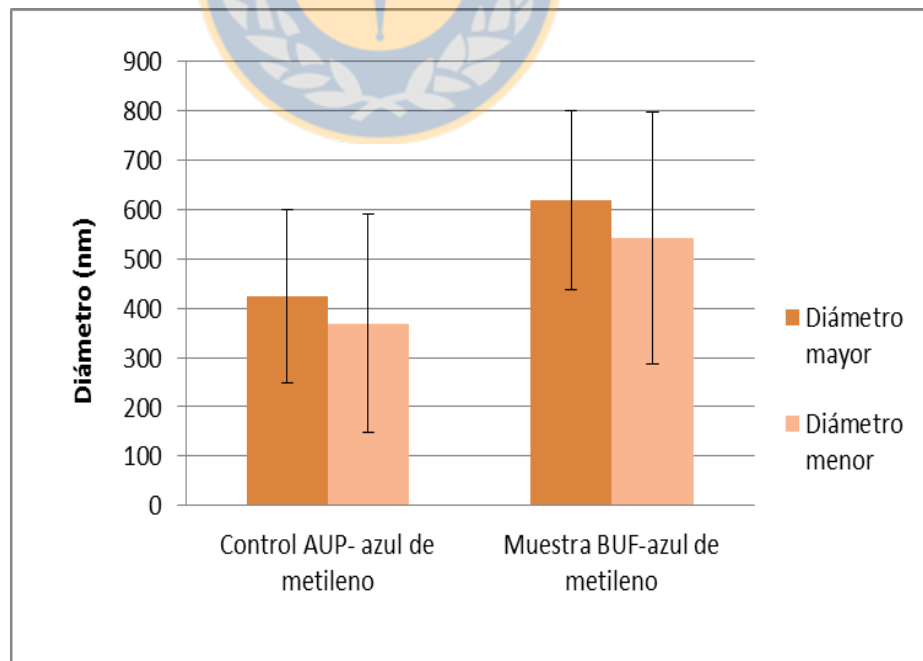


Figura 20. Diámetros mayores y menores de control AUP- azul de metileno y muestra BUF- azul de metileno. Fuente: Elaboración propia.

A pesar de que estos resultados podrían concluir que lo visto en la Figura 18 no son burbujas debido a la semejanza que tienen estas con los estructuras vistos en el control (Figura 16), se cree que en este último se presentan BUF que pueden estar en una suspensión de agua sin generarlas artificialmente. Tao (2005) señala que pequeñas burbujas o núcleos de gas de menos de 1 μm , existen naturalmente en líquidos como el agua de mar y agua destilada. Además la concentración de burbujas menores a 1 μm en la Figura 18 es mayor a la del control.

Otro detalle que se puede observar, es que las burbujas no son perfectamente esféricas lo que podría tener respuesta tratándose de BUF superficiales (Uchida et al., 2011). Además en la Figura 16 se puede observar como algunos de estas estructuras esféricas se alinean, probablemente por la atracción hidrofóbica de algún componente en el portaobjetos o una grieta diminuta donde pudieran haberse adherido las burbujas. Esto afirmaría mucho más la tesis de que podrían tratarse de burbujas superficiales.

En la Figura 20 se corrobora el hecho de que las estructuras detectadas no son esféricas, aquí se puede observar la diferencia entre diámetros mayores y menores que se detectaron en cada una de las estructuras de la muestra control AUP- azul de metileno y muestra BUF- azul de metileno. En el caso del control los diámetros mayores presentan una media de 423,5 nm y los menores 369,0 nm con un diámetro general de 396,3 nm. Por otra parte la muestra BUF presenta una media de 618,3 nm en diámetros mayores y 541,2 nm en el caso de diámetros menores, resultando con un diámetro medio general de 579,7 nm. Según el análisis estadístico las

muestras presentan diferencias significativas entre los diámetros mayores y menores.

Las imágenes obtenidas son similares a las de Azevedo et al., (2016) (Figura 21), donde mencionan con seguridad que lo observado corresponde a BUF, sin embargo los autores no reportan una muestra control.



Figura 21. BUF observadas por microscopía de luz transmitida (Azevedo et al., 2016).

8. POTENCIALES APLICACIONES EN LA AGROINDUSTRIA

8.1. Alimentos

Las aplicaciones actuales de BF y BUF en alimentos se enfocan mayoritariamente a la promoción del crecimiento de especies vegetales. Park & Kurata, (2009), demostraron que la lechuga (*Lactuca sativa*) tratada con BF fueron 2.1 veces más grandes, que los de la lechuga tratada con macroburbujas. Aunque las razones para la promoción del crecimiento por BF aún están bajo investigación, se especula que el área de superficie específica más grande de las BF y las cargas eléctricas negativas en las superficies de estas, pueden promover el crecimiento porque las BF atraen iones cargados positivamente que posteriormente se disuelven en la solución nutritiva. Algo similar sucede con las semillas de cebada (*Hordeum vulgare L.*). Liu et al., (2016) señala que después de 17 h sumergidas en el agua con BUF, la tasa de germinación promedio de las semillas de cebada fue 2 veces mayor que la del agua destilada. Estos resultados indicaron que los NB promovieron efectivamente la velocidad de germinación de las semillas de cebada. Por otra parte Ebina et al., (2013), demostró que el riego con agua con BUF en *Brassica campestris*, hizo que estas aumentaran tanto su peso de raíces como peso aéreo en comparación con el riego normal. Al igual que en el caso de las lechugas, el aumento del oxígeno disuelto, la mayor transferencia de masa (Tatech, 2017) y el potencial ζ negativo de las burbujas ayudarían a la promoción del crecimiento de estas especies. Las BUF promueven también el crecimiento de peces. Los resultados de Ebina et al., (2013),

demonstraron que el peso total de un pez de agua dulce aumentó de 3,0 a 6,4 kg en agua normal, mientras que aumentó de 3,0 a 10,2 kg en agua con BUF de aire.

En otra área de los alimentos, Deckers et al., (2011) descubrió la presencia de NB de 100 nm a través del método DLS durante la carbonatación de la cerveza. Cuando las condiciones climáticas son húmedas, los cultivos de cebada pueden ser infectados por hongos que producen proteínas anfífilas llamadas hidrofobinas. El autor postula que estas hidrofobinas contaminan las burbujas de CO₂ durante la carbonatación o agitación de la cerveza. Estas moléculas evitan la disolución de CO₂ y por lo tanto, estabilizan las burbujas de CO₂. Estas burbujas contienen energía (sobrepresión) que se libera cuando se abre el recipiente de la bebida, lo que provoca la nucleación simultánea de muchas burbujas que conduce a un derrame de espuma. Los resultados indican que tanto las hidrofobinas como el CO₂ son necesarios para inducir este efecto. Esta investigación da indicios de que la tecnología de BUF podría aplicarse a la industria de las bebidas para añadir gas de forma más estable y por ende mantener las características organolépticas deseadas por el consumidor, como la sensación de las burbujas en boca o también la adición de nuevos sabores. Respecto a lo último, Kashiwa et al., (2012), realizó un estudio donde aplicó sabor de “sansho-pepper” mediante BUF por método GaLF. El autor señala que el aroma no fue muy duradero pero que el sabor se mantuvo por lo menos 4 semanas.

En el área de postcosecha, Pongprasert & Srilaong, (2014) demostraron que la aplicación de 1-MCP en bananas con agua con BF, retarda la producción de etileno, el ablandamiento y aumenta el contenido de clorofila durante varios días de

almacenamiento en comparación con el tratamiento de 1-MCP gaseoso convencional. Otra aplicación en postcosecha la explican Ikeura et al., (2011). Los autores aplicaron BF de ozono en el agua de lavado para la eliminación del pesticida fenitrotión en tomates cherry, frutillas y lechugas resultando en una eliminación mayor que con el lavado convencional.

Las BF y BUF tienen la propiedad de formar radicales libres (Zhang et al., 2013; Tatech, 2017). Por esto es que tienen variadas aplicaciones en la eliminación de patógenos (Sumikura et al., 2007; Kawara et al., 2014). Por ejemplo, (Chujedton et al., 2015) aplicaron BF de ozono en una suspensión con *Penicillium digitatum*. Esto provocó la inactivación de las esporas. El porcentaje de germinación de esporas disminuyó significativamente después de la exposición a BF de ozono durante 15 minutos, e inhibió por completo la germinación de esporas a los 60 minutos. Además, después del tratamiento se observó una forma anómala en la pared celular de la espora. Los resultados fueron más favorables que el uso de ozono gaseoso. Zhang et al., (2013) también evaluó eficacia de desinfección con BF de ozono en la espora de *Bacillus subtilis* y Khuntia et al., (2015) calculó la contribución del radical hidroxilo y el ozono en la degradación del fenol. Esto demuestra que la aplicación de BUF podría mejorar el proceso avanzado de oxidación.

8.2. Limpieza de superficies

Debido a que las BUF son muy pequeñas pueden introducirse en cavidades eliminando impurezas y patógenos por arrastre, además de la propiedad de generar radicales libres como se mencionó anteriormente.

En particular, las BUF se pueden usar para eliminar proteínas que ya están adsorbidas en una superficie, así como también para prevenir su adsorción. Wu et al., (2008) aplicaron BUF producidas electroquímicamente eliminando alrededor del 60% de albúmina de suero bovino (BSA) de la superficie de acero inoxidable en cuatro ciclos de lavado, en comparación con el lavado convencional que disminuyó la BSA un poco más del 15%. El autor explica que cuando la superficie está cubierta por BUF, la cobertura de BSA disminuye a medida que las BUF forman una barrera física contra la adsorción. Yumiyama et al., (2019) estudiaron la eliminación de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en superficies a través del lavado de agua con BF. El estudio logró demostrar que la fuerte fuerza adhesiva se atribuye a las fuerzas capilares e hidrófobas entre las células de levadura y las BF.

8.3. Tratamiento de aguas residuales

La agricultura y la industrialización representan un mayor consumo de agua en comparación con el uso doméstico en todo el mundo (Teh et al., 2014) Las aguas residuales procedentes principalmente de las industrias agroalimentarias contienen proteínas, azúcares, aceites y grasas que poseen altas concentraciones de materia

orgánica biodegradable (Bozinis et al., 1996). La eliminación de tales efluentes en el medio ambiente conduce a la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas: aumento de la demanda química de oxígeno, eutrofización, desequilibrio del ecosistema y riesgos para la salud humana (Drogui et al., 2008).

La tecnología de BF tiene las ventajas de ser ambientalmente benigna y fácil de producir y usar en comparación con otros procesos que involucran productos químicos o agentes biológicos, además tienden a reducir considerablemente el tamaño de la instalación de tratamiento. Por lo tanto, tienen un potencial significativo para el diseño y la reducción de costos operativos además de su contribución como una técnica amigable con el medio ambiente (Temesgen et al., 2017; Xu et al., 2019). Coincidente con lo anterior Broekman et al., (2010) indica que el tratamiento de los sistemas de agua industriales con una combinación de cizallamiento, NB y ultrasonido de alta frecuencia y baja potencia conduce a condiciones que reducen la necesidad o, en muchos casos, eliminan la necesidad de biocidas químicos.

De manera general, los procesos biológicos (sistemas aeróbicos o anaeróbicos) se utilizan ampliamente para el tratamiento de aguas residuales de la agroindustria, pero muchas veces estos implican un alto consumo de energía para el suministro de los gases (Satyanarayan et al., 2005; González et al., 2008). Tatech, (2017) encontró que en un sistema aeróbico compatible con BF, el coeficiente de transferencia de masa era el doble que el del sistema convencional de burbuja. Del mismo modo, la tasa de consumo de oxígeno también fue el doble que la del sistema de burbujas convencional. Esta mejora en la transferencia de masa, aumentó el suministro de

oxígeno a la reacción biológica. Lo anterior implicaría un proceso de degradación más rápido y por ende más económico.

Además de la producción de radicales libres, la aceleración en la degradación de la materia orgánica (debido al aumento de transferencia de masa de las burbujas pequeñas) y la eliminación de patógenos del agua, las BF y BUF tienen otras características que ayudan al tratamiento de aguas residuales. La flotación por espuma o burbujas convencionales es una técnica comúnmente utilizada en la industria minera. Este proceso también ha encontrado muchas aplicaciones en otras industrias donde se necesita la separación física de los materiales. Sin embargo, su alta eficiencia de proceso a menudo se limita a un rango estrecho de tamaño de partícula de aproximadamente 10–100 μm ya que algunas de ellas se desprenden de la superficie de la burbuja y vuelven a caer en la fase pulpar. El desprendimiento de partículas ocurre cuando las fuerzas de desprendimiento exceden a las fuerzas de adhesión burbuja-partícula. Las BF y BUF pueden adsorben eficazmente las impurezas de mayor tamaño a diferencia de las burbujas convencionales, pero al ser tan pequeñas tienen muy baja flotabilidad. El uso de pequeñas burbujas aumenta la probabilidad de adhesión y reduce la probabilidad de desprendimiento pero se necesitan burbujas más grandes para proporcionar una levitación suficiente (Tao, 2005; Uchida et al., 2011). La inyección de BUF (200–720 nm) junto con burbujas convencionales (400–800 μm) mejoran las recuperaciones de flotación de partículas finas y ultrafinas (Calgaroto et al., 2015). El mecanismo que hace posible esta aplicación se explica de la siguiente manera: Debido al acercamiento de dos

superficies hidrofóbicas, las BUF llenas de gas en las superficies adyacentes se ven obligadas a unirse, formando un puente de gas y una fuerza capilar atractiva. Esto provoca la agregación de partículas y, por lo tanto, las hace más fáciles de recuperar debido a la mayor probabilidad de colisión. Con pequeñas burbujas adheridas en una superficie sólida, la unión de una burbuja convencional y una superficie sólida es a través de la fusión de ambas burbujas (Hampton & Nguyen, 2010; Ahmadi et al., 2014). Uchida et al., (2011) señalan que posiblemente observaron la atracción de partículas finas y BUF mediante imágenes TEM. Se encontramos algunos objetos esféricos que habían adsorbido una gran cantidad de partículas finas en su superficie. Estos objetos esféricos variaron de 5 a 9×10^{-7} m de diámetro formados en la solución, lo que corresponde al tamaño esperado de las BUF. Las partículas finas en los objetos esféricos tenían un diámetro de 2 a 3×10^{-8} m.

8.4. Otras aplicaciones

Existen otras aplicaciones de BF y BUF dentro del área agroindustrial poco mencionadas en las investigaciones, como por ejemplo la aplicación de estas para mejorar la obtención de metabolitos secundarios de hongos y levaduras. Weber & Agblevor, (2005) compararon la aireación mediante BF con aireación convencional de *Trichoderma reesei*, hongo productor de enzima celulasa. La morfología de este microorganismo causa una reología de caldo muy viscosa que impide la transferencia de masa de oxígeno debido a la propagación micelial y transforman el caldo de una mezcla newtoniana en una mezcla no newtoniana. Las fermentaciones

de con BF mostraron un aumento en la transferencia de oxígeno cinco veces mayor que la aireación convencional y casi el doble de productividad de masa celular. Como se mencionó anteriormente la aplicación de BF y BUF aumenta la tasa transferencia de oxígeno y de otros gases, lo que es muy beneficioso para sistemas fermentativos tanto aerobios como anaerobios. Muchos procesos fermentativos son utilizados en la agroindustria, por ejemplo los géneros del reino fungi tales como *Rhodospiridium* y *Sporidiobolus*, son productores de carotenoides, mientras que, *Phaffia rhodozyma* ha sido utilizada industrialmente en la producción de astaxantina. Este pigmento es utilizado en la avicultura para la alimentación de gallinas de postura y pollos de engorde para mejorar el color de la yema de huevo y la piel de pollo; además, en la acuicultura se utiliza como pigmento de la carne, piel o esqueleto, en salmónidos y crustáceos (Guamán & Carvajal-Barriga, 2009). La producción de biogás por digestión anaeróbica de biomasa, en sincronía con otras tecnologías, puede ayudar a reemplazar parcialmente la energía derivada de combustibles fósiles y, por lo tanto, a reducir el impacto ambiental al proporcionar un combustible limpio y difuso a partir de materia prima renovable (Schievano et al., 2009). La aplicación de BF y BUF no han sido profundamente estudiadas en áreas como estas enfocadas a la agroindustria. El desafío futuro es encontrar nuevas aplicaciones de tecnologías que nos lleven a maximizar la producción, reducir los costos y el consumo indiscriminado de recursos, mantener o aumentar la calidad y seguridad alimentaria, todo esto asociado a la preservación del medio ambiente.

9. CONCLUSIONES

Con esta investigación, no se pudo evidenciar con claridad el efecto del pH y tiempo sobre el tamaño y potencial ζ de las burbujas, debido a diferentes fenómenos que posiblemente ocurrieron, tales como contaminación, coalescencia, adhesión de partículas y colapso de algunas de las burbujas por el no uso de surfactantes que pudieran ayudar a la disminución de la tensión superficial.

Se logró observar estructuras a través de microscopía de luz transmitida que presuntamente corresponden a BF y BUF, pero no se puede afirmar que estas sean exclusivamente creadas de forma artificial.

El método DLS y la microscopía de luz transmitida no parecen ser las tecnologías más adecuadas para la caracterización de estas burbujas, ya que estos métodos fueron creados para la caracterización de micro-nanopartículas que difieren en peculiaridades que poseen las BF y BUF.

Las investigaciones y revisiones reportadas, muestran aplicaciones industriales que pueden ser extrapoladas a la agroindustria, debido a las diferentes características de las BF y BUF: su capacidad de transportar y mantener estable diferentes gases, aumentar la transferencia de masa, atraer iones e impurezas, atacar agentes patógenos entre muchas otras mencionadas en esta investigación.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal, A., Ng, W. J., & Liu, Y. (2011). Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment. *Chemosphere*, 84(9), 1175-1180. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.054>
- Ahmadi, R., Khodadadi, D. A., Abdollahy, M., & Fan, M. (2014). Nano-microbubble flotation of fine and ultrafine chalcopyrite particles. *International Journal of Mining Science and Technology*, 24(4), 559-566. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijmst.2014.05.021>
- An, H., Liu, G., & Craig, V. S. J. (2015). Wetting of nanophases: Nanobubbles, nanodroplets and micropancakes on hydrophobic surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, 9-17. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.07.008>
- Azevedo, A., Etchepare, R., Calgaroto, S., & Rubio, J. (2016). Aqueous dispersions of nanobubbles: Generation, properties and features. *Minerals Engineering*, 94, 29-37. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mineng.2016.05.001>
- Bozinis, N. A., Alexiou, I. E., & Pistikopoulos, E. N. (1996). A mathematical model for the optimal design and operation of an anaerobic co-digestion plant. *Water Science and Technology*, 34(5), 383-391. doi:[https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00669-5](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00669-5)
- Brenner, M. P., & Lohse, D. (2008). Dynamic Equilibrium Mechanism for Surface Nanobubble Stabilization. *Physical Review Letters*, 101(21), 214505. doi:[10.1103/PhysRevLett.101.214505](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.101.214505)
- Broekman, S., Pohlmann, O., Beardwood, E. S., & de Meulenaer, E. C. (2010). Ultrasonic treatment for microbiological control of water systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(6), 1041-1048. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.11.011>
- Calgaroto, S., Azevedo, A., & Rubio, J. (2015). Flotation of quartz particles assisted by nanobubbles. *International Journal of Mineral Processing*, 137, 64-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.minpro.2015.02.010>
- Chaudhry, Q., & Castle, L. (2011). Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. *Trends in Food Science & Technology*, 22(11), 595-603. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.01.001>

- Chemat, F., Zille, H., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chen, H., Mao, H., Wu, L., Zhang, J., Dong, Y., Wu, Z., & Hu, J. (2009). Defouling and cleaning using nanobubbles on stainless steel. *Biofouling*, 25(4), 353-357. doi:10.1080/08927010902807645
- Chiba, K. & Takahashi, M. (2007). Oxygen nanobubble water and method of producing the same. US Patent 2007/0286795 A1
- Chua Jedton, A., Uthaibutra, J., Whangchai, K. and Nuanaon, N. (2015). ozone microbubbles disinfection technique to inactivate *Penicillium digitatum* in suspension. *Acta Hort.* 1088, 355-358 doi: 10.17660/ActaHortic.2015.1088.60
- Deckers, S. M., Lorgouilloux, Y., Gebruers, K., Baggerman, G., Verachtert, H., Neven, H., Martens, J. (2011). Dynamic Light Scattering (DLS) as a Tool to Detect CO₂-Hydrophobin Structures and Study the Primary Gushing Potential of Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 69(3), 144-149. doi:10.1094/ASBCJ-2011-0524-01
- Dressaire, E., Bee, R., Bell, D. C., Lips, A., & Stone, H. A. (2008). Interfacial Polygonal Nanopatterning of Stable Microbubbles. *Science*, 320(5880), 1198. doi:10.1126/science.1154601
- Drogui, P., Asselin, M., Brar, S. K., Benmoussa, H., & Blais, J.-F. (2008). Electrochemical removal of pollutants from agro-industry wastewaters. *Separation and Purification Technology*, 61(3), 301-310. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.10.013>
- Ebina K, Shi K, Hirao M, Hashimoto J, Kawato Y, Kaneshiro S, et al. (2013) Oxygen and Air Nanobubble Water Solution Promote the Growth of Plants, Fishes, and Mice. *PLoS ONE* 8(6): e65339. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065339>
- Egbuna C. K., E.O. Aiyewalehinmi, I.A. Louis, I. Agali, (2013). The role of engineers in agro-industrial development in Nigeria. *Educational Research*, 4: 340-344.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812. doi:10.1126/science.1185383

- González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., García-Encina, P. A., & Muñoz, R. (2008). Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(5), 891-898. doi:10.1007/s00253-008-1571-6
- Guamán-Burneo, C., & Carvajal-Barriga, J. (2009). Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. *Universitas Scientiarum*, 14(2-3), 187-197. <https://doi.org/10.11144/javeriana.SC14-2-3.ceid>
- Hampton, M. A., & Nguyen, A. V. (2010). Nanobubbles and the nanobubble bridging capillary force. *Advances in Colloid and Interface Science*, 154(1), 30-55. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.01.006>
- Hu, L., & Xia, Z. (2018). Application of ozone micro-nano-bubbles to groundwater remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 342, 446-453.
- IDEC Corporation (2017). What are Ultrafine Bubbles? [Online]. <http://www.idec.com/home/finebubble/bubble01.html>
- Ikeura, H., Kobayashi, F., & Tamaki, M. (2011). Removal of residual pesticides in vegetables using ozone microbubbles. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1), 956-959. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.094>
- INN. (2005). Agua Potable - Parte 1: Requisitos. NCh409/1.Of2005 Instituto Nacional de Normalización, Santiago, Chile.
- ISO/TC 229. Nanotechnologies. International Organization for Standardization
- ISO/TC 281. Fine bubble technology. International Organization for Standardization
- Jyoti, K. K., & Pandit, A. B. (2001). Water disinfection by acoustic and hydrodynamic cavitation. *Biochemical Engineering Journal*, 7(3), 201-212. doi:[https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(00\)00128-5](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(00)00128-5)
- Kameda, N., Sogoshi, N., & Nakabayashi, S. (2008). Nitrogen nanobubbles and butane nanodroplets at Si(100). *Surface Science*, 602(8), 1579-1584. doi:<https://doi.org/10.1016/j.susc.2008.02.023>
- Kashiwa, M., Fujita, T., Yamazaki, H., Fushiki, T. (2012) Induction of sansho-pepper flavor to water by using nano-bubbles generator and its application to the field of food manufacturing JSMF Annual Meeting 2012, 180– 181

- Kawara, F., Inoue, J., Takenaka, M., Hoshi, N., Masuda, A., Nishiumi, S., Ohdaira, T. (2014). The Influences of Pepsin Concentrations and pH Levels on the Disinfective Activity of Ozone Nanobubble Water against *Helicobacter pylori*. *Digestion*, 90(1), 10-17. doi:10.1159/000358286
- Khuntia, S., Majumder, S. K., & Ghosh, P. (2015). Quantitative prediction of generation of hydroxyl radicals from ozone microbubbles. *Chemical Engineering Research and Design*, 98, 231-239. doi:https://doi.org/10.1016/j.cherd.2015.04.003
- Kim, J.-Y., Song, M.-G., & Kim, J.-D. (2000). Zeta Potential of Nanobubbles Generated by Ultrasonication in Aqueous Alkyl Polyglycoside Solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 223(2), 285-291. doi:https://doi.org/10.1006/jcis.1999.6663
- Kim, S., Kim, H., Han, M., & Kim, T. (2019). Generation of sub-micron (nano) bubbles and characterization of their fundamental properties. *Environmental Engineering Research*, 24(3), 382-388. doi:10.4491/eer.2018.210
- Kobayashi, H., Maeda, S., Kashiwa, M., Fujita, T. (2014a) Measurement and identification of ultrafine bubbles by resonant mass measurement method. In *Proceedings of SPIE*, Aya, N.; Iki, N.; Shimura, T.; Shirai, T., Eds; Vol. 9232, p 92320S 10.1117/12.2064811
- Kobayashi, H., Maeda, S., Kashiwa, M., Fujita, T. (2014b). Measurements of ultrafine bubbles using different types of particle size measuring instruments. In *Proceedings of SPIE* Aya, N., Iki, N., Shimura, T., Shirai, T., Eds.; Vol. 9232, p 92320U, 10.1117/12.2064638
- Kukizaki, M., & Goto, M. (2006). Size control of nanobubbles generated from Shirasuporous-glass (SPG) membranes. *Journal of Membrane Science*, 281(1), 386-396. doi:https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.04.007
- Li, H., Hu, L., Song, D., Al-Tabbaa, A. (2014). Subsurface Transport Behavior of Micro-Nano Bubbles and Potential Applications for Groundwater Remediation. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11, 473-486.
- Li, P., Takahashi, M., & Chiba, K. (2009). Enhanced free-radical generation by shrinking microbubbles using a copper catalyst. *Chemosphere*, 77(8), 1157-1160. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.062

- Liu, S., Oshita, S., Makino, Y., Wang, Q., Kawagoe, Y., & Uchida, T. (2016). Oxidative Capacity of Nanobubbles and Its Effect on Seed Germination. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(3), 1347-1353. doi:10.1021/acssuschemeng.5b01368
- Maeda, S., Kobayashi, H., Ida, K., Kashiwa, M., Nishihara, I., Fujita, T. (2014) The Effect of Dilution on the Quantitative Measurement of Bubbles in High-Density Ultrafine Bubble-Filled Water Using the Light Scattering Method. *Proc. SPIE*, 9232, 92320V.
- Manahan, S. E., & Leyva, I. M. (2006). *Introducción a la química ambiental*: Reverté.
- Marui, T. (2013) An introduction to micro/nano-bubbles and their applications. *Syst Cybern Inform*, 11 (4), 68-73
- Matsuki, N., Ichiba, S., Ishikawa, T., Nagano, O., Takeda, M., Ujike, Y., & Yamaguchi, T. (2012). Blood oxygenation using microbubble suspensions. *European Biophysics Journal*, 41(6), 571-578. doi:10.1007/s00249-012-0811-y
- Matsumoto, M., & Tanaka, K. (2008). Nano bubble—Size dependence of surface tension and inside pressure. *Fluid Dynamics Research*, 40(7), 546-553. doi:https://doi.org/10.1016/j.fluidyn.2007.12.006
- Murray, (2007). S. Murray Food: la industria más grande del mundo. www.forbes.com/2007/11/11/growth-agriculture-business-forbeslife-food07-cx_sm_1113bigfood.html
- Nagayama, G., Tsuruta, T., & Cheng, P. (2006). Molecular dynamics simulation on bubble formation in a nanochannel. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 49(23), 4437-4443. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2006.04.030
- Najafi, A. S., Drelich, J., Yeung, A., Xu, Z., & Masliyah, J. (2007). A novel method of measuring electrophoretic mobility of gas bubbles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 308(2), 344-350. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.01.014
- Ohgaki, K., Khanh, N. Q., Joden, Y., Tsuji, A., & Nakagawa, T. (2010). Physicochemical approach to nanobubble solutions. *Chemical Engineering Science*, 65(3), 1296-1300. doi:https://doi.org/10.1016/j.ces.2009.10.003

- Olaoye, A. (2014) Potentials of the Agro Industry towards Achieving Food Security in Nigeria and Other Sub-Saharan African Countries. *Journal of Food Security*, 2, 3-41.
- Park, J. S., & Kurata, K. (2009). Application of microbubbles to hydroponics solution promotes lettuce growth. *HortTechnology*, 19(1), 212-215.
- Planella, I. & Labbé, R. (1976). Agroindustria un intento de definición. *Revista Alimentos No. 7* Santiago de Chile.
- Pongprasert, N., & Srilaong, V. (2014). A novel technique using 1-MCP microbubbles for delaying postharvest ripening of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 95, 42-45. doi:<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.04.003>
- Satyanarayan, S., Ramakant, & Vanerkar, A. P. (2005). Conventional Approach for Abattoir Wastewater Treatment. *Environmental Technology*, 26(4), 441-448. doi:10.1080/09593332608618554
- Schievano, A., D'Imporzano, G., & Adani, F. (2009). Substituting energy crops with organic wastes and agro-industrial residues for biogas production. *Journal of Environmental Management*, 90(8), 2537-2541. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.01.013>
- Sumikura, M., Hidaka, M., Murakami, H., Nobutomo, Y., & Murakami, T. (2007). Ozone micro-bubble disinfection method for wastewater reuse system. *Water Science and Technology*, 56(5), 53.
- Sugano, K.; Miyoshi, Y.; Inazato, S. (2017). Study of Ultrafine Bubble Stabilization by Organic Material Adhesion. *Jpn. J. Multiphas. Flow*, 31, 299-306, doi:10.3811/jjmf.31.299
- Takahashi, M. (2005). ζ Potential of Microbubbles in Aqueous Solutions: Electrical Properties of the Gas-Water Interface. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(46), 21858-21864. doi:10.1021/jp0445270
- Takahashi, M., Chiba, K., & Li, P. (2007). Free-Radical Generation from Collapsing Microbubbles in the Absence of a Dynamic Stimulus. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(6), 1343-1347. doi:10.1021/jp0669254
- Takahashi, M., Kawamura, T., Yamamoto, Y., Ohnari, H., Himuro, S., & Shakutsui, H. (2003). Effect of Shrinking Microbubble on Gas Hydrate Formation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(10), 2171-2173. doi:10.1021/jp022210z

- Tao, D. (2005). Role of Bubble Size in Flotation of Coarse and Fine Particles—A Review. *Separation Science and Technology*, 39(4), 741-760. doi:10.1081/SS-120028444
- Tatech. (2017). Enhancing Gas-Liquid Mass Transfer and (Bio) Chemical Reactivity using ultrafine/Nanobubble in Water and Wastewater Treatments. Universidad Nacional de Seúl, Retrieved from <http://hdl.handle.net/10371/136691>
- Teh, C. Y., Wu, T. Y., & Juan, J. C. (2014). Potential use of rice starch in coagulation–flocculation process of agro-industrial wastewater: Treatment performance and flocs characterization. *Ecological Engineering*, 71, 509-519. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.07.005>
- Temesgen, T., Bui, T. T., Han, M., Kim, T.-i., & Park, H. (2017). Micro and nanobubble technologies as a new horizon for water-treatment techniques: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 246, 40-51. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.06.011>
- Tolman, R. C. (1949). The Effect of Droplet Size on Surface Tension. *The Journal of Chemical Physics*, 17(3), 333-337. doi:10.1063/1.1747247
- Tuziuti, T., Yasui, K., & Kanematsu, W. (2017). Influence of increase in static pressure on bulk nanobubbles. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 347-350. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.036>
- Uchida, T., Oshita, S., Ohmori, M., Tsuno, T., Soejima, K., Shinozaki, S., . Mitsuda, K. (2011). Transmission electron microscopic observations of nanobubbles and their capture of impurities in wastewater. *Nanoscale Research Letters*, 6(1), 295. doi:10.1186/1556-276X-6-295
- UNDP, (2012). The roles and opportunities for the private sector in Africa's Agro-food Industry, United Nations Development Program
- Ushikubo, F. Y., Furukawa, T., Nakagawa, R., Enari, M., Makino, Y., Kawagoe, Y., Oshita, S. (2010a). Evidence of the existence and the stability of nano-bubbles in water. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 361(1), 31-37. doi:<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. *IFAC Proceedings Volumes*, 43(26), 283-288. doi:<https://doi.org/10.3182/20101206-3-JP-3009.00050>

- Weber, J., & Agblevor, F. A. (2005). Microbubble fermentation of *Trichoderma reesei* for cellulase production. *Process Biochemistry*, 40(2), 669-676. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.047>
- Wu, C., Nasset, K., Masliyah, J., & Xu, Z. (2012). Generation and characterization of submicron size bubbles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 179-182, 123-132. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.06.012>
- Wu, Z., Chen, H., Dong, Y., Mao, H., Sun, J., Chen, S., Hu, J. (2008). Cleaning using nanobubbles: Defouling by electrochemical generation of bubbles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 328(1), 10-14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.08.064>
- Xu, R., Wang, Y., & Li, Z. (2019). Exploration of particle technology in fine bubble characterization. *Particuology*, 46, 109-115. doi:<https://doi.org/10.1016/j.partic.2019.04.009>
- Yasui, K., Tuziuti, T., & Kanematsu, W. (2016). Extreme conditions in a dissolving air nanobubble. *Physical Review E*, 94(1), 013106. doi:[10.1103/PhysRevE.94.013106](https://doi.org/10.1103/PhysRevE.94.013106)
- Yasui, K., Tuziuti, T., & Kanematsu, W. (2018). Mysteries of bulk nanobubbles (ultrafine bubbles): stability and radical formation *Ultrason. Sonochem.*, 48, 259-266
- Yasui, K., Tuziuti, T., Izu, N., & Kanematsu, W. (2019). Is surface tension reduced by nanobubbles (ultrafine bubbles) generated by cavitation? *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 13-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.11.020>
- Yumiyama, S., Kato, S., Konishi, Y., & Nomura, T. (2019). Direct measurement of interaction forces between a yeast cell and a microbubble using atomic force microscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 583, 123963. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123963>
- Zimmerman, W. B., Tesař, V., & Bandulasena, H. C. H. (2011). Towards energy efficient nanobubble generation with fluidic oscillation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16(4), 350-356. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.01.010>
- Zhang, F., Xi, J., Huang, J.-J., & Hu, H.-Y. (2013). Effect of inlet ozone concentration on the performance of a micro-bubble ozonation system for inactivation of *Bacillus subtilis* spores. *Separation and Purification Technology*, 114, 126-133. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.04.034>

- Zhang, X. H., Quinn, A., & Ducker, W. A. (2008). Nanobubbles at the Interface between Water and a Hydrophobic Solid. *Langmuir*, 24(9), 4756-4764. doi:10.1021/la703475q
- Zhou, W., Niu, J., Xiao, W., & Ou, L. (2019). Adsorption of bulk nanobubbles on the chemically surface-modified muscovite minerals. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 31-39. doi:https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.021

