

6º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

Inativação de Microorganismos Patógenos Durante o Processo de Biogaseificação: Estimando os Parâmetros Cinéticos Pelo Problema Inverso.

AUTORES:

Fabício de Souza Passos Sisquini

Marco A. B. Zanoni

Márcio Ferreira Martins

INSTITUIÇÃO:

Universidade Federal do Espírito Santo

Este Trabalho foi preparado para apresentação no 6º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás- 6º PDPETRO, realizado pela a Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás-ABPG, no período de 09 a 13 de outubro de 2011, em Florianópolis-SC. Esse Trabalho foi selecionado pelo Comitê Científico do evento para apresentação, seguindo as informações contidas no documento submetido pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho, como apresentado, não foi revisado pela ABPG. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões da Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás. O(s) autor(es) tem conhecimento e aprovação de que este Trabalho seja publicado nos Anais do 6ºPDPETRO.

Inativação de Microorganismos Patógenos Durante o Processo de Biogaseificação: Estimando os Parâmetros Cinéticos Pelo Problema Inverso.

Abstract

The health risk of sludge from wastewater is associated to possible presence of pathogens microorganisms. These microorganisms are derived from human and animal waste contaminated. Many authors have studied the mechanism of microbial inactivation taking into account an isothermal process. Recently, authors are studying non-isothermal microbial inactivation which approaches of the real process. The objective of this work is to study the kinetics of microbial inactivation, specifically in process of aerobic digestion using the sludge sewage. Thus, the posterior treatment in the sludge sewage is very important to eliminate the possible health risk. The model of inactivation was applied in order simulate of the microbial inactivation, by Arrhenius equation. Using the inverse problem, the Arrhenius parameters were estimated by use of minimization of least squares norm, Levenberg-Marquardt method, and then validates with experimental data. The model was applied in three microorganisms and, each one, with different heating rates. The range of applicability for the parameters estimated was defined. Analyzing the results some restrictions was observed. The model describes the "classical" comportment in the graphic of inactivation in the regions of heating and isothermal.

Introdução

No contexto atual de preocupação com a degradação progressiva do meio ambiente, pesquisas sobre o uso sustentável dos recursos naturais em pequenas localidades são claramente apresentadas como uma solução duradoura. Em inúmeros países o biogás, já como combustível estabelecido, vem sendo utilizado para cozimento e iluminação em comunidades agrícolas. A produção de biogás pode contribuir para a criação de "ilhas de sustentabilidade", que é hoje, um movimento natural em direção às Tecnologias Ambientais na agricultura familiar local.

Muitos tipos de resíduos de biomassa podem ser convertidos em combustíveis não sólidos através do processo de biogaseificação. O objetivo deste processo de conversão é valorizar o conteúdo energético da biomassa crua na fonte, assim como o de capturar os gases que são produzidos naturalmente pela degradação biológica. A biogaseificação, também conhecida como metanização, é a transformação da matéria orgânica em um biogás composto principalmente de CH_4 e CO_2 . Essa conversão é um fenômeno que ocorre naturalmente em pântanos, lagos, intestinos de animais e seres humanos.

Digestores anaeróbicos produzem uma série de reações químicas, decompondo a matéria orgânica pela ação de bactérias na ausência de ar. Este tipo de conversão produz um método efetivo para transformar resíduos orgânicos (de processamento de comida, de tratamento agrícola e resíduos domésticos, como o lodo de fossa séptica) em Biogás.

O processo de digestão ocorre num recipiente selado sem ar (digestor). O digestor precisa ser aquecido e misturado cuidadosamente para propiciar as condições necessárias a fim de que as bactérias convertam a matéria orgânica em biogás. Esse processo é dividido basicamente em duas etapas:

- A etapa mesofílica, onde o digestor é mantido entre 30 – 35 °C e a matéria prima permanece no digestor normalmente por 15 – 30 dias. Este tipo de digestão tende a ser mais robusta e tolerante do que o processo termofílico, entretanto a produção de gás é

menor, os tanques de digestão são maiores e é necessário um tratamento posterior na massa de substrato.

- Na etapa termofílica, o digestor é mantido em 55 °C e o tempo de residência são, normalmente, entre 12 – 14 dias. Este tipo de sistema oferece uma maior produção de metano, menor tempo de processo e uma melhor inativação de microorganismos patógenos. No entanto, requer uma tecnologia mais cara, maior gasto de energia e um maior grau de operação e monitoramento.

O posterior tratamento do processo de digestão é muito importante para controlar a presença de patógenos na lama residual, tendo como finalidade a proteção de humanos, animais e plantas (Lepeuple et al. 2004) de possíveis contaminações. O grau de desinfecção é influenciado por uma interação de variáveis operacionais e condições, que são altamente dependentes do tempo e temperatura (Pepper and Gerba 2004).

Com o intuito de determinar o tempo requerido para um dado processo de inativação, é necessário conhecer a taxa de aquecimento que deve ser aplicada à massa de substrato que se encontra dentro do digestor. A taxa de aquecimento é medida por um termopar colocado no centro do digestor. Além disso, o conhecimento da resistência ao calor do microorganismo é importante, tendo por finalidade de definir um tempo e uma temperatura adequada ao processo de inativação.

Existe uma variedade de modelos para a descrição de inativação de microorganismos nocivos aos seres humanos. O modelo comumente usado é dado por (Heldman and Singh 2001), que prediz a população sobrevivente quando a população inicial foi exposta à temperaturas elevadas durante um tempo. Este modelo considera a hipótese na qual todos os microorganismos têm sua própria característica de resistência ao calor, definido como o tempo requerido para que a população se reduza em 90% da população inicial a uma temperatura constante (Brennan 2006). Assim, esse tipo de modelo é conhecido como modelo isotérmico. No entanto, o processo de digestão não é realizado a uma temperatura constante, mas envolve períodos distintos – modelos não-isotérmicos (Holdsworth and Simpson 2007).

Atualmente, técnicas de modelos e simulações estão sendo desenvolvidos para transferência de calor, crescimento de microorganismos e sua inativação. Modelos para crescimento de bactérias com a variação de temperatura também são propostos na literatura. Um desses modelos é o proposto por (Ratkowsky et al. 1982) que desenvolve uma fórmula empírica, na qual relaciona a raiz quadrada entre a taxa máxima de crescimento específico e a temperatura.

Modelos mais realísticos são dependentes do tempo e temperatura, como os propostos por (Zwietering et al. 1991; Van Impe et al. 1995; Valdramidis et al. 2005; Gil et al. 2006; Valdramidis et al. 2006). Três principais hipóteses, nesses tipos de modelos, são necessárias para um primeiro passo no desenvolvimento, como sublinhado em (Valdramidis et al. 2005): (i) nenhum crescimento de microorganismos ocorre durante o período de aquecimento, (ii) existe uma temperatura limite na qual a inativação começa, (iii) o histórico de temperaturas não afeta a resistência do microorganismo ao calor. Ainda, (Valdramidis et al. 2006) desenvolveu um modelo integrado, usando a equação de Arrhenius, para descrever a influência da temperatura. A validação foi obtida pelo confronto de informações experimentais usando a *Listeria Monocytogenes*. Os experimentos usados foram carregados em duas taxas de aquecimento: 16.0 e 90.0 K min⁻¹ com um gradiente de temperatura de 15 °C até 90 °C. Os autores admitiram uma cinética de inativação de primeira ordem e como principal conclusão reconheceram que a maioria das curvas de microorganismos de células vegetais não segue a cinética de inativação de primeira ordem, logo esse tipo de aproximação deve ser considerada com cuidado.

Alguns autores, com o intuito de confrontar seus modelos, usam comumente dados pseudo-experimentais. Esse tipo de aproximação sempre foi usado em estudos de cinética de inativação (Haralampu et al. 1985; Nunes et al. 1991). Em (Gil et al. 2006) os dados pseudo-experimentais, para a *Listeria Monocytogenes*, foram gerados usando o modelo modificado de Gompertz (Zwietering et al. 1991). Utilizaram-se taxas de aquecimento de 18.3 e 110.0 K min⁻¹, com temperatura final de 60 °C para ambos os processos. Concluiu-se que o período de aquecimento afeta consideravelmente a inativação de microorganismos.

Em (Corradini et al. 2007), foram realizados experimentos para a *Escherichia Coli*, com o intuito de comparar a evolução da inativação com o modelo Weibullian (ou lei da potência – power law), (Peleg and Cole 1998). O principal parâmetro controlado foram as taxas de aquecimento, sendo esses os respectivos valores: 1.56, 0.76, 0.52 e 0.14 K min⁻¹ e todos os processos com a temperatura final de 55 °C. Os autores relataram que as inativações seguem uma cinética de primeira ordem, e enfatiza as facilidades da solução para problemas de primeira ordem, pela eliminação de um parâmetro desconhecido.

Outro tipo de modelo, reparametrização do modelo de Gompertz (Gil et al. 2006; Char et al. 2009; Huang 2009), foi usado em (Miller et al. 2011) e validado contra três taxas de aquecimento para a inativação da *Listeria Innocua*. Os experimentos foram realizados em um meio líquido que é similar para a situação observada na biogaseificação da lama de estação de tratamento. As taxas de aquecimento usadas para a inativação de microorganismos foram 1.50, 1.80 e 2.60 K min⁻¹, tendo como temperatura final de 65 °C. Os parâmetros para os diferentes meios foram estimados e os autores observaram que o meio afeta, consideravelmente, a resistência térmica dos microorganismos.

A obtenção de um melhor entendimento da cinética de inativação de microorganismos no processo de biogaseificação, utilizando diferentes taxas de aquecimento, torna-se necessária. Para isso, um procedimento numérico baseado em algoritmo que utiliza a técnica de problema inverso, para estimar os parâmetros de Arrhenius no processo de inativação é implementado e em seguida validado, comparando-se a dados experimentais disponíveis na literatura.

Metodologia

O modelo matemático usado, para descrever a inativação de microorganismos, é um modelo clássico comumente aplicado em mecanismos de reações químicas, onde o negativo do produto de um exponencial (relação de Arrhenius da temperatura) e a lei da potência (power Law) é proporcional a taxa de inativação. O processo não acontece a uma temperatura constante e envolve períodos distintos, consequentemente, o processo de inativação é tratado como uma reação química irreversível, Eq. (1)



então, a velocidade da taxa de inativação é dada por, Eq. (2)

$$k(t) = A \exp^{-E/RT(t)} \quad (2)$$

onde A é o fator pré-exponencial, E é a energia de ativação, R é a constante de gás ideal e T é um perfil de temperatura definido como linear. Então, a equação da taxa de inativação para uma ordem l é dado pela Eq. (3)

$$\frac{dN(t)}{dt} = -k(t)[N(t)]^l \quad (3)$$

onde N é o logaritmo da população de microorganismos no instante t . A condição inicial para a Eq. (3) é $N(0)$ que é população inicial de um dado microorganismo no tempo zero.

A Eq. (3) é então resolvida para obter uma expressão numérica em função dos parâmetros de Arrhenius. Essa expressão é chamada de solução do problema direto. Esse procedimento é um passo inicial para a aplicação do problema inverso. A solução do presente problema de estimação de parâmetros pode ser obtida pela minimização da norma de mínimos quadrados (Dantas et al. 2002), Eq. (4).

$$S(\mathbf{P}) = [\mathbf{Y} - \mathbf{N}(\mathbf{P})]^T [\mathbf{Y} - \mathbf{N}(\mathbf{P})] \quad (4)$$

onde $\mathbf{P} = [A_g, E_g, I_g]$, com $g=1,2$ e 3 , denota o vetor dos parâmetros desconhecidos. O termo $[\mathbf{Y} - \mathbf{N}(\mathbf{P})]$ é a diferença entre as medições e o resultado do problema direto – a solução da equação diferencial Eq. (3). O sobrescrito T denota a transposta dada pela, Eq. (5).

$$[\mathbf{Y} - \mathbf{N}(\mathbf{P})]^T \equiv \left[\left(\bar{\mathbf{Y}}_1 - \vec{\mathbf{N}}_1 \right), \left(\bar{\mathbf{Y}}_2 - \vec{\mathbf{N}}_2 \right), \dots, \left(\bar{\mathbf{Y}}_n - \vec{\mathbf{N}}_n \right) \right] \quad (5)$$

O subscrito n refere-se ao número de medições tomadas em um tempo t . Portanto, o problema inverso é resolvido pelo uso do algoritmo baseado no método de Levenberg-Marquardt. Esse método é bastante estável, poderoso e simples (Özisik and Orlande 2000), e tem sido usado para uma diversidade de situações. A Eq. (6) mostra sua forma discreta.

$$\mathbf{P}^{(\kappa+1)} = \mathbf{P}^{(\kappa)} + [(\mathbf{J}^{(\kappa)})^T \mathbf{J}^{(\kappa)} + \mu^{(\kappa)} \boldsymbol{\Omega}^{(\kappa)}]^{-1} (\mathbf{J}^{(\kappa)})^T [\mathbf{Y} - \mathbf{M}(\mathbf{P}^{(\kappa)})] \quad (6)$$

onde o sobrescrito (κ) define o número de iterações. Os parâmetros μ e $\boldsymbol{\Omega}$ são o parâmetro suavização e a matriz suavização do método, respectivamente, e são usados para suavizar algumas oscilações e instabilidades que podem dificultar a convergência do processo, diminuindo o tempo computacional. Finalmente, $\mathbf{J}$ representa a matriz sensibilidade definida pela Eq. (7),

$$\mathbf{J} = \left[\frac{\partial \mathbf{N}^T(\mathbf{P})}{\partial \mathbf{P}} \right]^T = \begin{bmatrix} \frac{\partial N_1}{\partial p_1} & \dots & \frac{\partial N_1}{\partial p_m} \\ \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ \frac{\partial N_N}{\partial p_1} & \dots & \frac{\partial N_N}{\partial p_m} \end{bmatrix} \quad (7)$$

os elementos da matriz sensibilidade são os coeficientes sensibilidade. Eles são definidos como a primeira derivada da população de microorganismos com respeito a cada parâmetro desconhecido, P_m , onde m é o número de parâmetros a serem determinados. Também, eles podem fornecer uma visão considerável do problema de estimação e do design do experimento para uma ótima precisão na estimação. Um procedimento iterativo torna-se necessário devido à natureza não linear do problema, por causa da dependência dos coeficientes sensibilidade com os parâmetros desconhecidos a serem

estimados. A iteração continua até que a estimação seja alcançada, i.e. quando não existem mudanças significativas em qualquer componente da matriz **J**.

Diferentes versões do método de Levenberg-Marquardt podem ser encontradas na literatura. A diagonal da matriz de suavização Ω^K e a forma de variação do parâmetro μ^K usados aqui são intrínseco do Software Mathematica.

Resultados

Aplicou-se o procedimento para três diferentes microorganismos: *Listeria Innocua*, *Listeria Monocytogenes* e *Escherichia Coli*. Esses microorganismos foram escolhidos pela disponibilidade de dados experimentais encontrados na literatura. Para cada microorganismo os parâmetros de Arrhenius (A , E e I) foram estimados para somente uma taxa de aquecimento e depois foram testados em outras taxas de aquecimento para verificar o intervalo de aplicabilidade.

Um conjunto de dados experimentais é necessário para a obtenção do termo $[Y-N(P)]$, iniciando assim o procedimento de estimação (Eq. 4). Para a *L. innocua* a taxa de aquecimento utilizada na estimação foi de 1.80 K min^{-1} , para a *L. Monocytogenes* foi de 90.00 K min^{-1} e para a *E. coli* foi de 1.56 K min^{-1} .

Na Fig. 1, é apresentado o comportamento transiente dos coeficientes sensibilidade. Para a análise da sensibilidade foram utilizados os valores aleatórios iniciais, conforme relata a Tabela 1.

Tabela 1. Valores iniciais dos parâmetros.

	<i>L. Innocua</i>				<i>L. Monocytogenes</i>				<i>E. Coli</i>			
Parâmetros	$N(0)$ (Log cfu mL ⁻¹)	A_1 (min ⁻¹)	E_1 (J mol ⁻¹)	I_1 (-)	$N(0)$ (Log cfu mL ⁻¹)	A_2 (min ⁻¹)	E_2 (J mol ⁻¹)	I_2 (-)	$N(0)$ (Log cfu mL ⁻¹)	A_3 (min ⁻¹)	E_3 (J mol ⁻¹)	I_3 (-)
Valores	7.913	3.33×10^9	75251.1	1	7.577	5	5000	1	7.913	250	27000	1

Na Fig. 1a o menor coeficiente sensibilidade observado é o coeficiente A_1 , onde se verificou maiores dificuldades em sua estimação. Na Fig. 1b e 1c o mesmo comportamento foi observado para A_2 e A_3 , respectivamente. Outro importante aspecto que precisa ser ressaltado é a aparente dependência linear entre os parâmetros A_1/I_1 , A_2/I_2 e A_3/I_3 , mas um cuidadoso exame das diferentes taxas de todos os coeficientes mostra que eles não são linearmente dependentes e, desta forma, a estimação simultânea é possível.

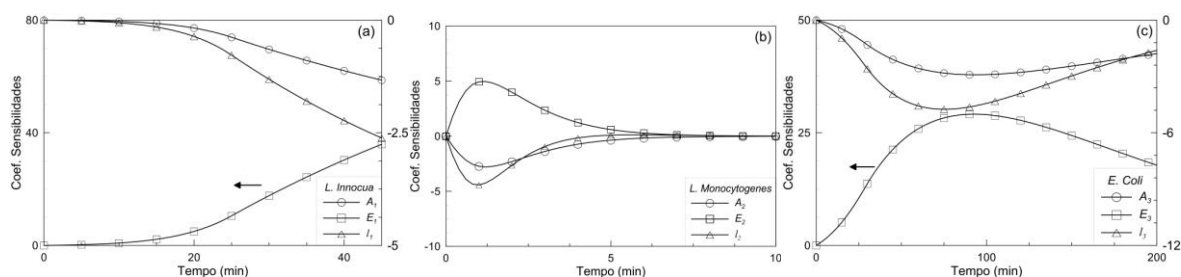


Figura 1. Coeficientes sensibilidades.

Pode-se notar que um pequeno valor da magnitude dos coeficientes indica uma grande mudança em seus parâmetros, logo maiores dificuldades no processo de estimação (Özisik and Orlande 2000). De outro lado, os valores dos coeficientes sensibilidade E_i são maiores para os três parâmetros e analisando, nota-se um menor erro na estimação.

A partir dos experimentos realizados para os seguintes microorganismos: *L. Innocua* (Miller et al. 2011), *L. Monocytogenes* (Valdramidis et al. 2006) e *E. Coli* (Corradini et al. 2007), os dados foram

extraídos e os parâmetros foram estimados pela minimização da função objetivo (Método de Levenberg-Marquardt), os resultados estão apresentados na Fig. 2. Os valores dos parâmetros estimados, como também os erros relativos são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros estimados.

	<i>L. Innocua</i>			<i>L. Monocytogenes</i>			<i>E. Coli</i>		
Parâmetros	A_1 (min^{-1})	E_1 (J mol^{-1})	I_1 (-)	A_2 (min^{-1})	E_2 (J mol^{-1})	I_2 (-)	A_3 (min^{-1})	E_3 (J mol^{-1})	I_3 (-)
Valores	8.808×10^{24}	169876.0	0.997	151.580	17826.9	1.004	1.801×10^8	63355.1	0.996
Erros (%)	0.193	0.0034	0.183	0.299	0.056	0.113	0.049	0.0018	0.028

Para a *L. Innocua*, Fig. 2a, o modelo apresenta o mesmo comportamento dos dados experimentais. Como a taxa de aquecimento é devagar, o tempo para atingir a inativação é maior, formando um plateau que se estende por aproximadamente 20 minutos. Observou-se que a inativação começa perto de 323 K e segue a tendência experimental até o final.

Na Fig. 2b, uma taxa de aquecimento de 90.0 K min^{-1} foi usada para a inativação da *L. Monocytogenes*. O modelo mostra uma boa concordância com os dados experimentais. Neste caso o plateau não se encontra presente, indicando que a temperatura de inativação é quase que instantaneamente alcançada.

Da Fig. 2c, foi observado o mesmo comportamento quando comparado com a *L. Innocua*. A temperatura de inativação é de 305 K. É importante notar que a *E. Coli* tem resistência ao calor menor que *L. Innocua*. Ressalta-se na Fig. 2a e 2c, que quando a temperatura isotérmica é alcançada, as curvas de inativação tendem a ser log-linear, como relatado por (Aragao et al. 2007; Chen 2007).

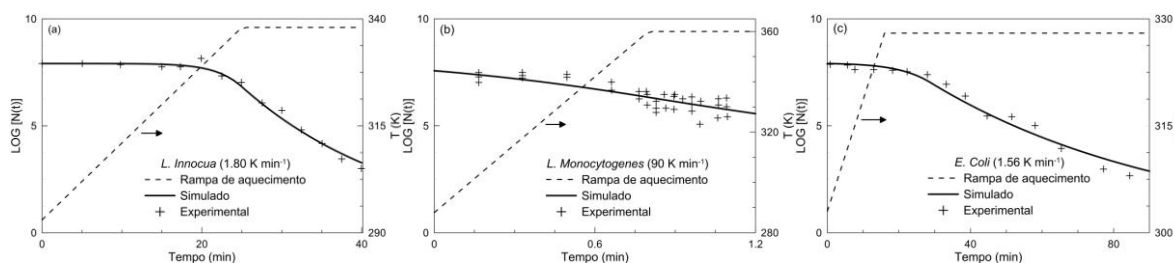


Figura 2. Evolução das curvas de inativação com suas respectivas taxas de aquecimento.

As Figs. 3–5 apresentam os resultados da comparação do processo de inativação, utilizando os parâmetros estimados, com resultados experimentais obtidos por (Miller et al. 2011), (Gil et al. 2006; Valdramidis et al. 2006) e (Corradini et al. 2007) realizado em diferentes taxas de aquecimento.

Em relação a *L. Innocua*, os parâmetros se aplicam para o seguinte intervalo de taxa de aquecimento: próximo a 1.50 K min^{-1} como limite inferior e próximo a 2.60 K min^{-1} como limite superior. Na Fig. 3a, o modelo mostrou ser coerente com o experimento. Ainda, o modelo reproduziu o “clássico” plateau supracitado, e a temperatura em que a inativação se inicia é idêntica que a observada na Fig. 2a. Analisando a curva obtida com os dados experimentais, observamos que as hipóteses propostas por (Valdramidis et al. 2005) são razoáveis. De outro lado, no limite superior (Fig. 3b), notou-se que quando o processo de inativação alcança a temperatura isotérmica, a curva tende a se descolar dos dados experimentais.

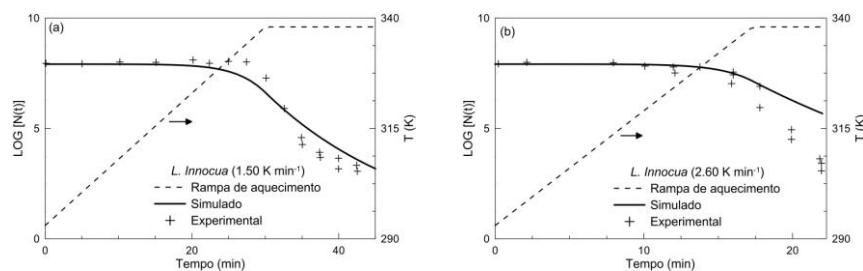


Figura 3. Parâmetros estimados aplicados em duas taxas de aquecimento: Evolução da inativação para *L. Innocua*.

Para *L. Monocytogenes*, os parâmetros se aplicam para o seguinte intervalo de taxa de aquecimento: limite inferior com 16.0 K min^{-1} e o limite superior com 110.0 K min^{-1} . Na Fig. 4c, os parâmetros estimados, juntamente com o modelo, produzem um resultado satisfatório. Mas, analisando as Fig. 4a e 4b fica clara a discrepância entre o experimento e a curva obtida. Isso é explicado pela relativa diferença entre as taxas de aquecimento usadas na estimação e as taxas de aquecimento das Fig. 4a e 4b.

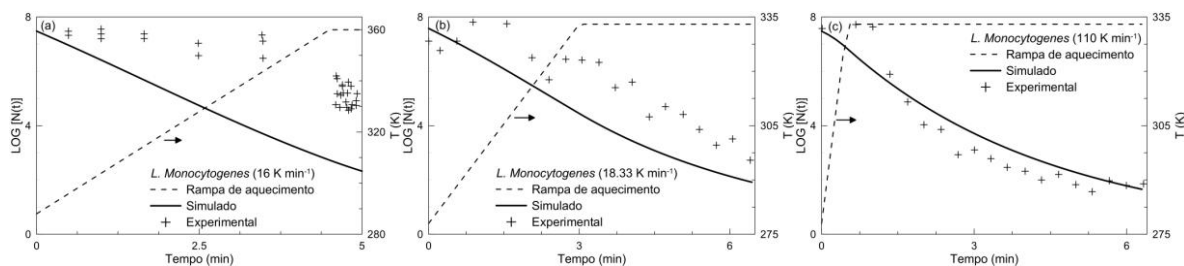


Figura 4. Parâmetros estimados aplicados em três taxas de aquecimento: Evolução da inativação para *L. Monocytogenes*.

Para *E. Coli*, Fig. 5, em todos os casos testados o modelo mostrou ser eficiente na reprodução do comportamento das curvas, temperatura de inativação e tempo de processo. Os parâmetros se aplicam para o seguinte intervalo de taxa de aquecimento: 0.15 a 1.56 K min^{-1} . Não se pode determinar o limite superior tendo em vista a ausência de dados experimentais.

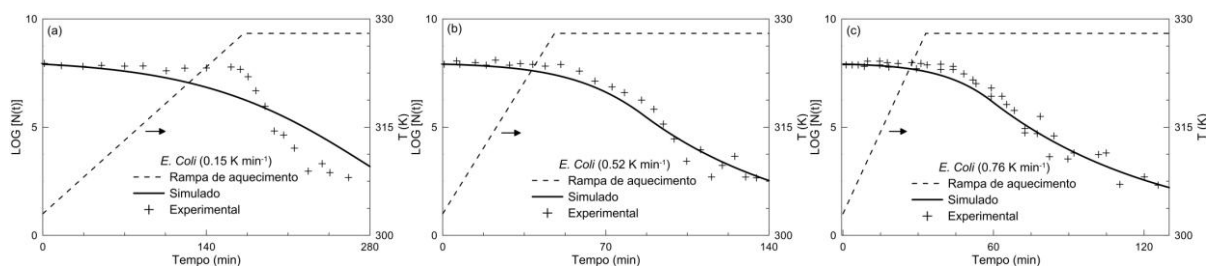


Figura 5. Parâmetros estimados em três taxas de aquecimento: Evolução da inativação para *E. Coli*.

Conclusões

Comparando o perfil de temperatura, fica evidente a influência da taxa de aquecimento no plateau e no tempo de espera para iniciar a inativação. Pode-se concluir que se uma taxa de aquecimento lenta é escolhida, o tempo de processo precisa ser estendido para alcançar uma meta específica da população de microorganismos presente na amostra, quando comparado com uma rápida taxa de aquecimento.

O modelo de inativação de microorganismo ilustra as duas partes do processo, nas fases de aquecimento e isotérmica, quando o decaimento de microorganismos se aproxima do modelo de inativação log-linear. É importante sublinhar que os parâmetros estimados, junto com o modelo de inativação proposto, descrevem o processo de inativação em um intervalo de aquecimento. Este limite

necessita ser testado e estudos para o entendimento do funcionamento precisam ser realizados. Alguns estudos de inativação admitem uma cinética de primeira ordem, esta hipótese é válida, pois os parâmetros *I* obtiveram valores próximos a um.

O meio é um aspecto importante, como também a influência de outras propriedades (pH, umidade, entre outras), pois as mudanças dessas propriedades trazem consigo fenômenos físicos, químicos e biológicos para o processo de inativação. Os resultados obtidos, com o intuito de representar a inativação no processo de digestão anaeróbico, são satisfatórios e seus parâmetros podem ser utilizados na simulação do decaimento da população de microorganismos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de expressar seu agradecimento à ANP – Agência Nacional de Petróleo por financiar este projeto, como também ao Laboratório de Fenômenos Computacionais de Transporte Computacional (LFTC/UFES) por seu uso como o suporte computacional.

Referências Bibliográficas

Aragao, G. M. F., M. G. Corradini, et al. (2007). "Evaluation of the Weibull and log normal distribution functions as survival models of *Escherichia coli* under isothermal and non isothermal conditions." International Journal of Food Microbiology 119(3): 243-257.

Brennan, J. G. (2006). Food processing handbook, WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim.

Char, C., S. Guerrero, et al. (2009). "Survival of *Listeria innocua* in thermally processed orange juice as affected by vanillin addition." Food Control 20(1): 67-74.

Chen, H. (2007). "Use of linear, Weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in milk." Food Microbiology 24(3): 197-204.

Corradini, M. G., M. D. Normand, et al. (2007). "Modeling non-isothermal heat inactivation of microorganisms having biphasic isothermal survival curves." International Journal of Food Microbiology 116(3): 391-399.

Dantas, L. B., H. R. B. Orlande, et al. (2002). "Estimation of dimensionless parameters of Luikov's system for heat and mass transfer in capillary porous media." International Journal of Thermal Sciences 41(3): 217-227.

Gil, M. M., T. R. S. Brandão, et al. (2006). "A modified Gompertz model to predict microbial inactivation under time-varying temperature conditions." Journal of Food Engineering 76(1): 89-94.

Haralampu, S. G., I. Saguy, et al. (1985). "ESTIMATION OF ARRHENIUS MODEL PARAMETERS USING THREE LEAST SQUARES METHODS." Journal of Food Processing and Preservation 9(3): 129-143.

Heldman, D. R. and R. P. Singh (2001). Introduction To Food Engineering, ACADEMIC PRESS.

Holdsworth, D. and R. Simpson (2007). Thermal processing of packaged foods, Springer.

Huang, L. (2009). "Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions." Journal of Food Engineering 90(3): 380-387.

Lepeuple, A. S., S. Giloupe, et al. (2004). "Rapid and automated detection of fluorescent total bacteria in water samples." International Journal of Food Microbiology 92(3): 327-332.

- Miller, F. A., B. F. Ramos, et al. (2011). "Heat inactivation of *Listeria innocua* in broth and food products under non-isothermal conditions." Food Control 22(1): 20-26.
- Nunes, R. V., J. W. Rhim, et al. (1991). "Kinetic Parameter Evaluation with Linearly Increasing Temperature Profiles: Integral Methods." Journal of Food Science 56(5): 1433-1437.
- Özisik, M. N. and H. R. B. Orlande (2000). "Inverse heat transfer." 35 - 114.
- Peleg, M. and M. B. Cole (1998). "Reinterpretation of Microbial Survival Curves." Critical Reviews in Food Science and Nutrition 38: 353-380.
- Pepper, I. and C. Gerba (2004). Environmental Microbiology: A Laboratory Manual, Elsevier.
- Ratkowsky, D. A., R. K. Lowry, et al. (1983). "Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range." J. Bacteriol. 154(3): 1222-1226.
- Ratkowsky, D. A., J. Olley, et al. (1982). "Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures." J. Bacteriol. 149(1): 1-5.
- Valdramidis, V. P., N. Belaubre, et al. (2005). "Development of predictive modelling approaches for surface temperature and associated microbiological inactivation during hot dry air decontamination." International Journal of Food Microbiology 100(1-3): 261-274.
- Valdramidis, V. P., A. H. Geeraerd, et al. (2008). "Identification of non-linear microbial inactivation kinetics under dynamic conditions." International Journal of Food Microbiology 128(1): 146-152.
- Valdramidis, V. P., A. H. Geeraerd, et al. (2006). "Quantitative description of *Listeria monocytogenes* inactivation kinetics with temperature and water activity as the influencing factors; model prediction and methodological validation on dynamic data." Journal of Food Engineering 76(1): 79-88.
- Van Impe, J. F., B. M. Nicolaï, et al. (1995). "Predictive microbiology in a dynamic environment: a system theory approach." International Journal of Food Microbiology 25(3): 227-249.
- Zwietering, M. H., J. T. de Koos, et al. (1991). "Modeling of bacterial growth as a function of temperature." Appl. Environ. Microbiol. 57(4): 1094-1101.