

METODOLOGÍA PARA LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS. II. MÉTODOS DE ESTIMACIÓN

*Margarita Nuñez de Villavicencio**, René Hernández-Álvarez, Ivania Rodríguez-Álvarez,
José L. Rodríguez y Yailén Torres-López

Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carr. al Guatao km 3 ½, La Habana, Cuba, CP 19200.

E-mail: margarita@iia.edu.cu

RESUMEN

La metodología para la estimación de la vida útil de los alimentos propone el empleo de uno de los dos métodos de estimación más utilizados dependiendo de la naturaleza y tiempo de vida útil esperado del producto en particular: el análisis de Weibull o técnicas de riesgo y el método de almacenamiento acelerado por abuso de temperatura. En este trabajo se exponen los pasos para aplicar ambos métodos de estimación y se desarrollan ejemplos.

Palabras clave: vida útil, durabilidad, estimación, análisis de Weibull, técnicas de riesgo, pruebas de almacenamiento acelerado.

ABSTRACT

Methodology to estimate the shelf-life of foods. II. Methods of estimation

The methodology for estimating shelf life of food proposes the use of one of the two most widely used estimation methods depending on the nature and expected shelf life of the particular product: Weibull analysis or hazard techniques and accelerated shelf life tests for temperature abuse. In this paper the steps to apply both estimation methods and examples are presented.

Keywords: shelf life, estimation, Weibull analysis, hazard techniques, accelerated shelf life test.

INTRODUCCIÓN

El procedimiento general de la metodología para la estimación de la vida útil de los alimentos consta de tres pasos fundamentales: análisis preliminar del sistema producto-envase-ambiente, ensayos de almacenamiento y caracterización y aplicación de la técnica de estimación adecuada (1).

Como parte de la etapa de análisis preliminar del sistema producto-envase-ambiente se debe haber decidido qué método de estimación se utilizará, el directo, conocido como análisis de Weibull, técnicas de riesgo o análisis de supervivencia, aplicable a alimentos almacenados a temperatura ambiente, refrigerados y congelados que pertenecen a las categorías de vida útil corta o media, o el indirecto mediante el empleo de pruebas de almacenamiento acelerado por abuso de temperatura, útil para productos estables o de larga duración para los cuales sea válido suponer que el aumento de la temperatura de almacenamiento incrementa la velocidad de deterioro (2-10).

**Margarita Nuñez de Villavicencio Ferrer: Licenciada en Matemática (UH, 1984) y Master en Ciencias Matemáticas (UH, 2000). Sus líneas de trabajo fundamentales son la aplicación de técnicas de probabilidades y estadística matemática a la investigación de alimentos.*

Concluidos los ensayos de almacenamiento y caracterización, etapa central del estudio, se debe contar con la información necesaria para la determinación de la vida útil o durabilidad del producto ya sean tiempos de vida de las unidades del producto o distribuciones temporales de magnitudes físico-químicas, sensoriales, microbiológicas u otras y puede procederse a la aplicación del método de estimación seleccionado con el objetivo de obtener una estimación de la vida útil o durabilidad del producto con la mayor precisión y exactitud posibles (1).

MÉTODOS DE ESTIMACIÓN

Análisis de Weibull

Para estimar la vida útil por el método directo, empleando análisis de Weibull o técnicas de riesgo a partir de los tiempos de vida de las unidades experimentales, deben estimarse primero los parámetros de la función de distribución de probabilidad asumida. La más común de las distribuciones utilizadas para modelar el tiempo de vida de los productos alimenticios y estimar su vida útil es la distribución de Weibull que será la empleada en esta metodología (4, 6, 11-14).

Una vez estimados los parámetros de escala o vida característica (α) y de forma (β) de la función de distribución de probabilidad de Weibull y sus intervalos de confianza al 95 % será posible calcular la vida media o tiempo medio hasta el fallo del producto y su desviación estándar y el tiempo de vida de las unidades expe-

$$F^{-1}(p) = \alpha[-\ln(1-p)]^{\left(\frac{1}{\beta}\right)}$$

rimentales para el percentil deseado p (porcentaje de unidades deterioradas admitidas en un lote de producto), que se estima sustituyendo p , α y β en:

Estimación de los parámetros de la función de distribución de Weibull

La estimación de los parámetros α y β puede realizarse siguiendo los pasos propuestos (4) que se ejemplificarán con los datos mostrados en la Tabla 1 que corresponden a los resultados obtenidos en el estudio de durabilidad o vida útil de un producto.

Tabla 1. Ejemplo de los pasos 1 al 5 para la estimación de los parámetros de la función de distribución de Weibull

	1	2	3	4	5	6	7
No.	Tiempo (días)	Fallo (Si/No)	Rango inverso $k = (n - i + 1)$	Riesgo $h(t) = 1/k$	Riesgo Acumulado $H(t)$	$\ln(t)$	$\ln H(t)$
1	38	SI	12	0,08	0,08	3,64	-2,48
2	38	NO	11				
3	38	NO	10				
4	40	SI	9	0,11	0,19	3,69	-1,64
5	40	NO	8				
6	40	SI	7	0,14	0,34	3,69	-1,09
7	42	SI	6	0,17	0,50	3,74	-0,69
8	42	SI	5	0,20	0,70	3,74	-0,35
9	42	SI	4	0,25	0,95	3,74	-0,05
10	43	SI	3	0,33	1,29		
11	43	SI	2	0,50	1,79		
12	43	SI	1	1,00	2,79		

1. Ordenar los tiempos en orden creciente (de menor a mayor), independiente del lote al que correspondan señalando si la muestra o unidad experimental analizada fue rechazada (falló) o no (columnas 1 y 2 de la Tabla 1).

2. Asignar rangos inversos a los tiempos. Si se tienen n tiempos el rango inverso correspondiente al tiempo i se calcula por $k = (n - i + 1)$ (columna 3 de la Tabla 1).

3. Calcular el valor del riesgo para cada tiempo de fallo mediante la expresión $h(t) = 1/k$ (columna 4 de la Tabla 1).

4. Calcular el valor de riesgo acumulado $H(t)$ para cada tiempo de fallo, el cual es la suma de su valor de riesgo y los valores de riesgo de todos los tiempos de fallo precedentes (columna 5 de la Tabla 1).

5. Calcular los logaritmos naturales de t y $H(t)$ (columnas 6 y 7 de la Tabla 1).

6. Ajustar los datos a la ecuación

$$\ln t = \ln \alpha + (1/\beta)\ln H(t)$$

excluyendo aquellos cuyo riesgo acumulado sea mayor que uno ($H(t) > 1$) (15), mediante análisis de regresión lineal simple o mínimos cuadrados, para estimar los parámetros $\ln \alpha$ (el intercepto) y $1/\beta$ (la pendiente) y sus intervalos de confianza al 95 %. Al graficar esta relación debe obtenerse una línea recta.

7. Comprobar la bondad de ajuste de los datos a la distribución de Weibull estimada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov modificada (16, 17). Si como resultado de la prueba de bondad de ajuste resulta que no se puede rechazar la hipótesis de que los datos provengan de la distribución de Weibull con un nivel de confianza al menos del 95 %, entonces pueden utilizarse los valores estimados de los parámetros para realizar el resto de los cálculos, en caso contrario debe obtenerse más información aumentando el número de observaciones.

Del análisis de regresión realizado para ajustar los datos de las columnas 6 y 7 de la Tabla 1 al modelo de regresión indicado en el paso 6, se obtuvo que tanto el

análisis de varianza de la regresión como los parámetros estimados resultaron significativos ($p \leq 0,05$); el coeficiente de determinación $R^2 = 0,91$ indica que el modelo explica el 91 % de las variaciones, lo que demuestra su buen ajuste. Los valores estimados de los parámetros de la función de distribución de Weibull y sus intervalos de confianza al 95 % son los siguientes: ($\alpha = 42,52 \pm 0,02$) y ($\beta = 23,14 \pm 0,03$).

La prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov modificada muestra que el valor calculado de $D_n = 0,274$ es menor que el valor tabulado $d_{n,0,05} = 0,339$ y por tanto no se puede rechazar la hipótesis de que los datos sigan la distribución de Weibull con un nivel de confianza del 95 %, por lo que los valores estimados de los parámetros pueden utilizarse para caracterizar y estimar la vida útil del producto y se tiene que la vida media o tiempo medio hasta el fallo y la desviación estándar de la función de distribución de probabilidad de Weibull estimada son $\bar{t} = 41,5$ días y $\sigma_t = 0,05$ respectivamente, además, el tiempo de vida de las unidades experimentales para el percentil deseado p (porcentaje de unidades deterioradas admitidas en un lote de producto) puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$F^{-1}(p) = 42,52[-\ln(1 - p)]^{\left(\frac{1}{23,14}\right)}$$

La Tabla 2 presenta los tiempos de vida, sus intervalos de confianza al 95 %, calculados para algunos valores de percentil o porcentaje de unidades deterioradas admisibles en un lote. La vida útil o durabilidad del producto se determina aproximando el valor entero inferior al valor calculado para el percentil deseado, en este ejemplo, para el 0,05 percentil, es decir para 5 % de unidades deterioradas, el tiempo de vida útil o durabilidad sería de 37 ± 2 días mientras que el 10 % de unidades deterioradas se alcanza a los 38 ± 2 días y el 20 % a los 39 ± 2 días.

Estudios de almacenamiento acelerado por abuso de temperatura

Los métodos o pruebas de almacenamiento aceleradas (ASLT Accelerated Shelf-Life Testing) surgen de la necesidad de obtener, en un tiempo relativamente corto, la información necesaria para determinar la vida útil de los productos alimenticios fundamentalmente de larga duración. Los resultados de toda prueba de

Tabla 2. Tiempos de vida e intervalos de confianza al 95% para algunos valores de percentil

Percentil	Tiempo de vida	Intervalo de Confianza al 95%	
		Límite Inferior	Límite Superior
0,01	34,86	32,60	37,27
0,05	37,40	34,98	39,99
0,1	38,58	36,09	41,25
0,2	39,85	37,28	42,61
0,5	41,86	39,15	44,75

almacenamiento acelerado deben ser cuidadosamente validados una vez que el producto esté en el mercado (2, 5-9, 12, 18-21).

Las ASLT son aplicables a cualquier proceso de deterioro que tenga un modelo cinético válido, puede ser químico, físico, bioquímico, microbiológico e incluso sensorial. Existen varias aproximaciones a las ASLT pero el método más común es la aproximación por el modelo cinético, más específicamente el modelo de Arrhenius, que relaciona la velocidad de la reacción de deterioro a los cambios de temperatura y cuya popularidad lo ha hecho sinónimo de las ASLT (6-10).

El proceso básico para la realización de una prueba de almacenamiento acelerado por abuso de temperatura involucra: 1) la selección de las temperaturas de almacenamiento para la aceleración del proceso de deterioro, 2) el diseño experimental del estudio cinético para cada temperatura de almacenamiento seleccionada, 3) la ejecución del estudio cinético del proceso de deterioro a cada una de las temperaturas seleccionadas o ensayos de almacenamiento y caracterización, 4) la modelación cinética o evaluación de los parámetros del modelo cinético para cada temperatura, 5) la determinación del efecto de la temperatura mediante el ajuste de la ecuación de Arrhenius, 6) la determinación de la vida útil para cada temperatura, 7) la determinación de la relación entre la vida útil y la temperatura, Q_{10} y 8) la estimación de la vida útil a la temperatura de almacenamiento normal (6, 8, 9, 22).

La precisión de la estimación se incrementa con el número de temperaturas ensayadas que no deben ser menos de tres, Taoukis y col. (8) comentan que cinco o seis temperaturas es el óptimo práctico para obtener la mayor exactitud con el menor costo posible.

La selección de las temperaturas depende del producto y debe realizarse con cuidado para evitar la ocurrencia de cambios diferentes a los que deben ocurrir a la temperatura de almacenamiento normal tales como cambios o separación de fases, pérdidas de humedad y desnaturalización de las proteínas, entre otros (6, 9, 10, 23).

Para cada temperatura de almacenamiento se debe proceder a establecer un diseño experimental, en el que deben quedar claramente establecidos: la duración del estudio, los tiempos de muestreo, las muestras representativas y el número de muestras necesarias garantizando la representatividad de cada lote.

Durante la ejecución del estudio cinético deben quedar registrados los valores de las magnitudes físico-químicas, sensoriales, microbiológicas u otras, con las que se realizará la evaluación de los parámetros cinéticos y la estimación a las condiciones normales de almacenamiento.

Modelación cinética o evaluación de los parámetros del modelo cinético para cada temperatura

Los principios y procedimientos de la modelación cinética han sido ampliamente tratados en la literatura. Estos métodos se basan en establecer que, bajo condiciones ambientales constantes, la degradación y pérdida de la calidad y por tanto de la vida útil de los alimentos, puede ser representada por la disminución o aumento de uno o varios índices de calidad. La mayoría de las reacciones de deterioro en alimentos han sido caracterizadas como de orden aparente cero o primer orden (6-10, 20, 21, 23).

La función de calidad para reacciones de orden cero y primer orden, bajo condiciones ambientales constantes, pueden escribirse como:

$$\text{Orden cero: } C - C_0 = -kt \quad C = C_0 - kt$$

$$\text{y Primer orden: } \ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad \ln C = \ln C_0 - kt$$

donde: C_0 es el valor inicial del índice de calidad; C es el valor del índice de calidad en el tiempo t y k es la constante de velocidad (t^{-1}).

Para determinar el orden aparente de la reacción de deterioro y estimar el valor de la constante de velocidad, los datos obtenidos para cada temperatura, deben graficarse mediante diagramas de dispersión de C vs. t y $\ln(C/C_0)$ vs. t . El orden aparente será aquel para el que se obtenga el modelo de mejor ajuste utilizando algún criterio estadístico de bondad de ajuste como el coeficiente de determinación (R^2). Una vez determinado el orden aparente de la reacción, se estima el valor de las constantes de velocidad, k , para cada temperatura, que no es más que la pendiente del modelo de regresión ajustado mediante mínimos cuadrados, determinándose también sus intervalos de confianza al 95 %.

Para ejemplificar se tomaron los datos publicados de un estudio para evaluar la vida útil de un producto al que se le añadieron 200 mg/L de un edulcorante, se consideró como límite de calidad una degradación del 50 % del edulcorante (8).

En los gráficos del comportamiento durante el almacenamiento del edulcorante, correspondientes a los modelos cinéticos de orden cero (Fig. 1) y primer orden (Fig. 2), se pueden apreciar las marcadas diferencias entre las pendientes indicando dependencia de la temperatura en ambos modelos cinéticos, a mayor temperatura mayor velocidad de degradación. De los valores de los coeficientes de determinación (R^2), puede determinarse que el orden de reacción o modelo cinético de mejor ajuste es el de orden cero debido a que estos valores son mayores que los calculados para el modelo de primer orden y además, son capaces de explicar más del 90 % de las variaciones del comportamiento observado.

El análisis de varianza de la regresión y la prueba t de significación de la pendiente para el modelo cinético de orden cero resultaron significativas ($p \leq 0,05$)

demostrando la dependencia lineal del contenido de edulcorante con el tiempo de almacenamiento en cada temperatura. Las constantes de velocidad estimadas y sus límites de confianza al 95 % son: $1,89 \pm 0,3$; $0,40 \pm 0,08$ y $0,17 \pm 0,02$ para 30, 20 y 10 °C, respectivamente.

Determinación del efecto de la temperatura. Ecuación de Arrhenius

El efecto de la temperatura sobre la velocidad de la reacción de deterioro puede expresarse mediante la ecuación de Arrhenius, que relaciona la constante de velocidad de la reacción a la temperatura absoluta mediante la siguiente expresión (6-10, 21):

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

donde: k es la constante de velocidad de la reacción de deterioro; E_a es una constante conocida como factor pre exponencial; R es la energía de activación (J/mol); es la constante de los gases (8,3143 J/K mol) y T es la temperatura absoluta (K = °C + 373,15).

El ajuste, mediante el método de mínimos cuadrados, permite obtener una estimación de la constante de velocidad de la reacción y la energía de activación a la temperatura absoluta.

Los resultados del ajuste por mínimos cuadrados a la ecuación de Arrhenius, para las constantes de velocidad estimadas en el ejemplo, muestran que tanto el análisis de varianza de la regresión como la prueba t de significación de los coeficientes, resultaron significativas ($p \leq 0,05$) y el valor del coeficiente de determinación (R^2) indica que el modelo explica el 95 % de las variaciones, lo que demuestra el buen ajuste del modelo estimado. Los valores estimados y los límites de confianza al 95 % de los parámetros fueron:

$$\ln k_0 = 34,56 \pm 7,36$$

$$\frac{E_a}{R} = 10326,2 \pm 2164,1$$

De estos se obtienen las estimaciones de la constante de velocidad de la reacción a la temperatura absoluta, k_0 y la energía de activación:

$$k_0 = 1,02 \times 10^{15} \pm 1,62 \times 10^3 h^{-1}$$

$$E_a = 86032 \pm 18030 \text{ J/Kmol}$$

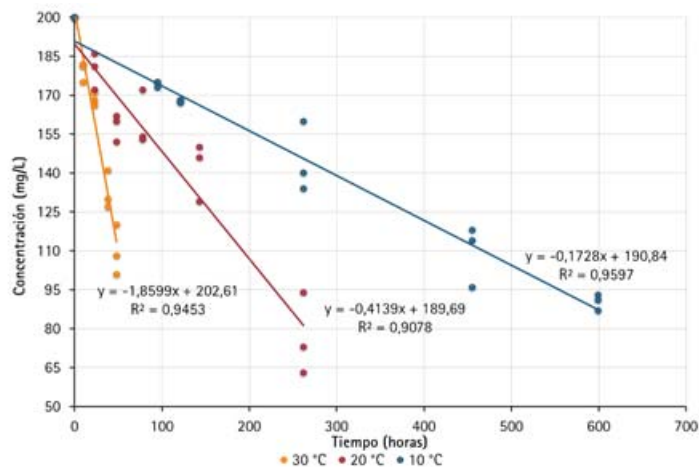


Figura 1 Diagrama de dispersión del comportamiento durante el almacenamiento del edulcorante, cinética de orden cero.

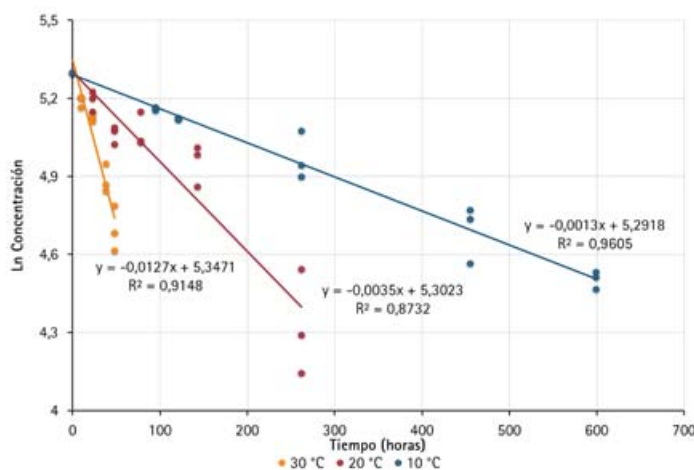


Figura 2 Diagrama de dispersión del comportamiento durante el almacenamiento del edulcorante, cinética de primer orden.

Determinación de la vida útil o durabilidad para cada temperatura

Para cada temperatura, se conoce que la vida útil o durabilidad es inversamente proporcional a la constante de velocidad, por lo que puede calcularse estableciendo un valor límite de calidad para la característica analizada C_f , empleando los valores estimados de los parámetros del modelo cinético de orden cero o primer orden ajustado, mediante las ecuaciones (6-10, 20, 21, 23):

Orden cero:

$$\theta = \frac{C_0 - C_f}{k}$$

Primer orden:

$$\theta = \frac{\ln(C_0/C_f)}{k}$$

donde: θ es la vida útil o durabilidad, es el valor inicial del índice de calidad, C_f es el valor límite del índice de calidad y k es la constante de velocidad.

Como se comentó en el enunciado del ejemplo, el límite de calidad será cuando se obtenga una degradación del 50 % del edulcorante, correspondiente a un valor final $C_f = 100$ mg/mL; la Tabla 3 muestra la vida útil, que puede calcularse sustituyendo los valores en la ecuación correspondiente a la reacción de orden cero y sus intervalos de confianza al 95 % para cada temperatura de almacenamiento. La diferencia de la durabilidad estimada entre las temperaturas es apreciable, obsérvese que si se expresara en días serían aproximadamente: 2, 10 y 24 días almacenado a 30, 20 y 10 °C, respectivamente.

Tabla 3. Vida útil estimada para los modelos cinéticos de orden cero

Temperatura (°C)	Vida útil (h)	Intervalo de Confianza al 95%	
		Límite Inferior	Límite Superior
30	53	44	65
20	248	207	310
10	596	529	682

Determinación de la relación entre la vida útil y la temperatura

La relación entre la vida útil y la temperatura ha sido expresada tradicionalmente como Q_{10} , la proporción o razón de la velocidad de reacción a temperaturas que difieren en 10 °C o el cambio de la vida útil cuando el alimento es almacenado a una temperatura diferente en 10 °C, además es útil para comprobar que no hubo cambios en el mecanismo de la reacción entre las temperaturas estudiadas. Q_{10} depende de la temperatura y de la energía de activación por lo que debe especificarse el rango de temperaturas sobre el que fue determinado y está definido por la siguiente expresión (6-10, 20, 21, 23):

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10}}{k_T}$$

donde: k_T es la constante de velocidad a la temperatura T °C y k_{T+10} es la constante de velocidad a la temperatura T+10 °C.

Puede demostrarse que $Q_{10} = \frac{\theta_T}{\theta_{T+10^\circ C}}$

donde: θ_T es la vida útil a la temperatura T °C y θ_{T+10} es la vida útil a la temperatura T+10 °C.

Cuando los datos tienen un buen ajuste a la ecuación de Arrhenius lo más recomendado es calcular el coeficiente utilizando la aproximación al modelo cinético:

$$Q_{10} = \exp\left(\frac{E_a}{R} \frac{10}{T(T+10)}\right)$$

donde: $\frac{E_a}{R}$ se estima por la pendiente del ajuste a la ecuación de Arrhenius.

Si la diferencia entre las temperaturas ensayadas es distinta de 10°C, entonces, similarmente a Q_{10} , puede utilizarse el término Q_Δ . Puede demostrarse que si $\Delta = T_1 - T_2$, entonces:

$$Q_\Delta = Q_{10}^{\Delta/10}$$

y

$$Q_{10}^{\Delta/10} = \frac{\theta_{T_1}}{\theta_{T_2}}$$

donde: θ_{T_i} es la vida útil a la temperatura

La Tabla 4 muestra los valores de Q_{10} calculados por la aproximación al modelo cinético y sus intervalos de confianza al 95 %.

Estimación de la vida útil a la temperatura de almacenamiento normal

La aproximación más utilizada para determinar la velocidad de deterioro y la vida útil a la temperatura normal de almacenamiento es el uso de Q_{10} o Q_Δ (6-10, 20, 21, 23).

Si se supone que la temperatura normal de almacenamiento del producto es 5 °C, la durabilidad o vida útil puede calcularse con el valor de Q_{10} para 10 °C, despejando en las ecuaciones correspondientes se tiene que:

$$\theta_{5^\circ C} = Q_{10}^{5/10} \theta_{10^\circ C}$$

Tabla 4. Valores de Q_{10} calculados para cada temperatura e intervalos de confianza al 95%

Temperatura °C	Q_{10}	Intervalo de Confianza al 95%	
		Límite Inferior	Límite Superior
30	2,97	2,36	3,73
20	3,20	2,51	4,08
10	3,47	2,67	4,50

Dado que Q_{10} y la vida útil a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ es $\theta_{10^{\circ}\text{C}} = 596$ h entonces:

$$\theta_{5^{\circ}\text{C}} = 1110 \text{ h}$$

De la misma forma puede calcularse el intervalo de confianza al 95 % para $\theta_{5^{\circ}\text{C}}$ sustituyendo por los valores límites inferiores y superiores.

La vida útil o durabilidad del producto almacenado a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ será aproximadamente de 1 110 h entre 864 y 1 448 h con un 95 % de confianza o 46 días entre 36 y 60 días.

REFERENCIAS

1. Nuñez de Villavicencio, M.; Hernández-Álvarez, R.; Rodríguez-Álvarez, I.; Rodríguez, J. L. y Torres-López, Y. *Cienc. Tecnol. Alim.* 27(1):58-64, 2017.
2. Cantillo, J.; Nuñez de Villavicencio, M. y Fernández, C. *Durabilidad de los Alimentos. Métodos de Estimación.* La Habana, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 1994.
3. Freitas, M. A. y Costa, J. C. *Computers & Industrial Engineering* 51(4):652-70, 2006.
4. Gacula, M. C. y Singh, J. *Statistical Methods in Food and Consumer Research.* San Diego, Academic Press, 1984, pp. 501-505.
5. Hough, G. *Sensory Shelf Life Estimation of Food Products.* Boca Raton, FL, CRC Press; 2010.
6. Man, C. M. D. *Shelf Life.* West Sussex, John Wiley & Sons, Ltd., 2015.
7. Nicoli, M.C. *Shelf Life Assessment of Food.* Barbosa-Cánovas G.V. (Ed.), Boca Raton, FL., Taylor & Francis Group, 2012.
8. Taoukis, P. S.; Labuza, T.P. y Saguy, I.S. Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction, En: *Handbook of Food Engineering Practice.* Rotstein E., Singh R.P. y Valentas K.J. Eds. Boca Raton, FL, CRC Press, 1997, pp. 366-408.
9. Mizrahi, S. Accelerated shelf life testing of foods. En: *Food and Beverage Stability and Shelf Life.* Kilcast D. y Subramaniam P, Eds. Cambridge, Woodhead Publishing Limited, 2011, pp. 482-506.
10. Robertson, G. L. Food Quality and Indices of Failure. En: *Food Packaging and Shelf Life: a practical guide.* Boca Raton, FL., CRC Press; 2010. 17-30 p.
11. Guillet, M. y Rodrigue, N. Shelf life testing methodology and data analysis. En: *Food Packaging and Shelf Life A practical Guide.* Robertson G.L., Ed. Boca Raton, FL., CRC Press, 2010. 31-53 p.
12. Manzocco, L.; Calligaris, S. y Nicoli, M. C. Methods for food shelf life determination and prediction, En: *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications: Volume 1: Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity.* Decker E.D., Elias R., McClements D.J., Eds. Cambridge, Woodhead Publishing Limited, 2010, pp. 196-222.
13. ReliaSoft. Life Data Analysis Reference, Tucson, Arizona, ReliaSoft Corporation; 2015.
14. Larsen, R. A. *Foods shelf life: estimation and experimental design.* Provo, UT. Brigham Young University, 2006.
15. Cardelli, C. y Labuza, T. P. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* (34):273-278, 2001.
16. Evans, J. W.; Johnson, R. A. y Green, D. W. *Two and Three Parameter Weibull Goodness of Fit Tests.* Forest Service. Erie, KS., United States Department of Agriculture, 1989.
17. START. Selected Topics in Assurance Related Technologies 10(6):1-6, 2003.
18. Fu, B. y Labuza, T. P. *Food Control* 4(3):125-33, 1993.
19. Kilcast, D. y Subramaniam, P. Food and beverage stability and shelf life. Cambridge, Woodhead Publishing Ltd., 2011.
20. Labuza, T. P. *Chemical Education* 61(4):348-58, 1984.
21. Villota, R. y Hawkes, J. G. Reaction kinetics in food systems. En: *Handbook of Food Engineering.* 2 ed. Heldman D.R., Lund D.B., Eds. Boca Raton, FL., CRC Pres, 2007, pp. 125-286.
22. Robertson, G. L. Packaging and food and beverage shelf life. En: *Food and beverage stability and shelf life.* Cambridge, Woodhead Publishing, 2011, pp. 244-72.
23. Fu, B. y Labuza, T. P. *Shelf Life Testing: Procedures and Prediction Methods for Frozen Foods* [en línea]. Consultado 30 marzo 2016 en <https://es.scribd.com/document/126940621/Shelf-Life-Testing-Procedures-and-Prediction-Methods-for-Frozen-Foods>