

**Análisis de Sensibilidad Global en Procesos de
Fermentación para la Producción de Bioetanol utilizando
Levadura Genéticamente Modificada**

María Paz Ochoa y Patricia Mónica Hoch.

PLAPIQUI Planta Piloto de Ingeniería Química
(Universidad Nacional del Sur - CONICET)
Camino La Carrindanga km. 7 - 8000 Bahía Blanca - Argentina
E-mail: p.hoch@plapiqui.edu.ar

Resumen. En este trabajo se presenta un estudio de sensibilidad global sobre un proceso de fermentación para la producción de bioetanol a partir de la utilización de la levadura genéticamente modificada *Sacchomyces 1400* (pLNH33), capaz de fermentar tanto glucosa como xilosa (Wang y Chen, 2010). Se asocian distribuciones de probabilidad a cada uno de los parámetros inciertos y se determinan perfiles temporales para los índices de sensibilidad para las principales variables diferenciales y algebraicas. Se aplica el método propuesto por Sobol' (1990) y se realizan las simulaciones estocásticas en el entorno gPROMS (PSEnterprise, 2009). Los resultados muestran la influencia de los parámetros variable en el tiempo de operación del bioreactor.

Palabras clave: Análisis de sensibilidad global, Producción de bioetanol, *Sacchomyces 1400* (pLNH33), Glucosa, Xilosa, Sistemas DAE.

1 Introducción

En la actualidad, el interés por el etanol como combustible para el transporte ha incrementado sustancialmente. La producción de etanol a partir de recursos renovables puede mejorar la seguridad energética, reducir la acumulación de dióxido de carbono y reducir la contaminación del aire (Wang, 2010)

2do Simposio Argentino de Informatica Industrial, SII 2013

Particularmente en Argentina, se fomenta la producción de bioetanol, bajo los estándares del protocolo de Kyoto, mediante las leyes 26.093 y 26.334, las cuales establecen el porcentaje en volumen de bioetanol que debe agregarse a las naftas (del 5% al 10%) y fijan los beneficios impositivos asociados a esta producción. Los objetivos planteados son satisfacer las necesidades de abastecimiento de bioetanol del país y generar excedentes para exportación; desarrollar y fomentar el crecimiento del sector agropecuario, de la actividad económica en general y de las economías regionales, agregándole valor a sus materias primas; y afrontar los desafíos de abastecimiento energético.

La producción de etanol se lleva a cabo mediante la fermentación directa del contenido de azúcar de las materias primas tales como maíz, papa, remolacha, caña de azúcar, trigo, etc. También puede obtenerse a partir de materiales lignocelulósicos, polímero natural potencialmente más económico y abundante, como la madera, residuos industriales (industria de pulpa y papel), residuos agrneral (paja de trigo, tallos de maíz, residuos de soja, bagazo de caña), cultivos energéticos de rápido crecimiento, residuos forestales, residuos sólidos urbanos, etc. Estas materias primas contienen hexosas y pentosas, tales como glucosa y xilosa respectivamente como los principales azúcares fermentables.

Se necesitan procesos de producción de etanol eficientes y sustratos de bajo costo. Los procesos de producción actuales que utilizan cultivos como la caña de azúcar y el maíz constituyen tecnologías comerciales maduras. Sin embargo la utilización de materias primas más económicas, como materiales lignocelulósicos podría hacer al bioetanol más competitivo frente a los combustibles fósiles. A través de la ingeniería metabólica, las cepas de levadura han sido modificadas para que sean capaces de fermentar eficientemente una variedad de azúcares (Zaldivar, 2001).

En este trabajo se propone un modelo dinámico que se formula como un sistema de ecuaciones diferencial-algebraico, el mismo surge de balances de

materia de sustratos, biomasa y producto. Los sustratos considerados son (2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-6-(hidroximetil) tetrahidro-2H-pirano-2,3,4,5-tetraol y (2R, 3S, 4R)-2,3,4,5-Tetrahidroxipental, conocidos como glucosa y xilosa respectivamente.

Las salidas del modelo se ven influenciadas en distintas medidas por la incertidumbre en los parámetros de entrada. En este trabajo, se aplica un análisis de sensibilidad global a través de técnicas basadas en varianza para identificar los parámetros más influyentes, y cuáles de estos parámetros impactan en mayor medida en las salidas del modelo. El análisis de sensibilidad puede clasificarse, en términos generales, como local y global. Las técnicas locales calculan índices de sensibilidad como la derivada parcial primera de las variables de salida del modelo con respecto a los parámetros de interés. Las mismas están basadas en la expansión en serie de Taylor alrededor del valor nominal del parámetro. Sin embargo, la hipótesis de linealidad sólo es válida en un rango estrecho de variación del parámetro. Por lo tanto, los resultados obtenidos a partir del análisis de sensibilidad local pueden no ser representativos cuando se debe considerar todo el rango de variación de los parámetros y cuando se trata de modelos no-lineales, tan complejos como procesos biológicos discontinuos. El análisis de sensibilidad global provee información en las salidas del sistema cuando se explora simultáneamente el espacio completo de variación de los parámetros, muestreando desde la función de distribución asociada a cada parámetro de entrada y realizando repetidas simulaciones del modelo. Como ventaja adicional, los resultados son más realistas, ya que se pueden identificar interacciones entre los parámetros. El método es independiente del modelo, ya que no se requiere realizar la suposición de linealidad o aditividad (Saltelli et al., 2008)

Los índices de sensibilidad para cada parámetro se calculan siguiendo la aproximación de Sobol' (2001), que emplea métodos de simulación Monte Carlo para el cálculo de perfiles temporales de las varianzas condicionales con

respecto a los parámetros de entrada que tienen mayor impacto en el cálculo de las principales variables de estado, ya sea diferenciales o algebraicas.

El análisis de sensibilidad global se efectuó en un sistema de ecuaciones diferencial-algebraico que representa un bioreactor discontinuo para la producción de bioetanol. El modelo tiene en cuenta balances de masa dinámicos, expresiones cinéticas y ecuaciones algebraicas adicionales. En el modelo se consideran 7 parámetros. El mismo se implementó en gPROMS (PSEnterprise, 2009). En este entorno, se generan dos conjuntos diferentes de parámetros aleatorios para $k=7$. Se considera un tamaño de muestra de $N=1000$ escenarios. Se realizaron las $N(2k+1)$ simulaciones Monte Carlo y se calcularon las varianzas condicionales e incondicionales y los índices de sensibilidad. De esta manera se calcularon los perfiles temporales de los índices de primer orden y totales para los 7 parámetros considerados, detallados en la Tabla 1.

Los índices de sensibilidad calculados muestran cuáles son los parámetros del modelo que introducen mayor incertidumbre en el proceso de producción de etanol.

2 Análisis de Sensibilidad Global en el Proceso de Fermentación.

El análisis de sensibilidad global está basado en la exploración de todo el rango de variación de los parámetros del modelo, realizando un muestreo a partir de la función de distribución asociada a cada parámetro de entrada y simulaciones repetidas del modelo. Estos métodos tienen asociado un mayor costo computacional en comparación con los métodos locales, pero proporcionan resultados más realistas, ya que también se tiene en cuenta la interacción entre los parámetros (Saltelli et al., 2004; Pastres et al. 2004). Además, los métodos globales no requieren la hipótesis de linealidad y/o aditividad del modelo. Algunas técnicas de sensibilidad global incluyen el método de Morris (Morris, 1991), el método de Sobol' y el Test de Fourier (FAST:Fourier Amplitude Sensitivity Test) (Cukier et al., 1973).

El método de Sobol' está basado en la misma descomposición de varianza que FAST, pero a través de la aplicación de los métodos de Monte Carlo en lugar del análisis espectral (Sobol', 1990; Saltelli and Sobol', 1995; Sobol', 2001; Saltelli and Tarantola, 2002). La idea básica es que, dada una función $y=f(x,t)$, donde y es la variable de estado diferencial o algebraica (por ejemplo concentración de biomasa) y x es un vector de k parámetros de entrada del modelo y t es el tiempo, esta función se puede descomponer en términos de dimensionalidad creciente (Sobol', 1990). Para lograr una mayor claridad, en el siguiente desarrollo, se omite el subíndice t , asumiendo que f y su valor esperado y varianza se calculan en cada instante de tiempo:

$$f = f_0 + \sum_i f_i(x_i) + \sum_i \sum_{j>i} f_{ij}(x_i, x_j) + \dots + f_{12\dots k}(x_i, x_j, \dots, x_k) \quad (1)$$

La ecuación (1) es una representación ANOVA de la función $y = f(x)$ si

$$\int f_{i_1\dots i_s}(x_{i_1} \dots x_{i_s}) dx_n = 0 \quad (2)$$

En (2), los sumandos en la Ec.(1) son ortogonales y pueden ser expresados como integrales de $f(x)$, elevando al cuadrado la Ec.(3) e integrando:

$$\int f^2(x) dx - f_0^2 = \sum_{s=1}^k \sum_{i_1 < \dots < i_s} f_{i_1\dots i_s}^2 dx_{i_1} \dots dx_{i_s} \quad (3)$$

Donde

$$V(y) = \int f^2(x) dx - f_0^2, \quad V_{i_1\dots i_s} = \int f_{i_1\dots i_s}^2 dx_{i_1} \dots dx_{i_s} \quad (4)$$

$V(y)$ y $V_{i_1\dots i_s}$ corresponden a la varianza incondicional y condicional de la variable de estado, respectivamente. La varianza incondicional se puede descomponer como (Sobol', 1990):

$$V(y) = \sum_i V_i + \sum_i \sum_{j>i} V_{ij} + \dots + V_{12\dots k} \quad (5)$$

Las Ecs. (3) y (6) son únicas si los parámetros de entrada son ortogonales y los sumandos de la Ec. (3) son integrables al cuadrado en su dominio de existencia.

Aún cuando los parámetros sean ortogonales o no, la varianza incondicional se puede descomponer como la suma de la varianza del valor condicional esperado y el valor esperado de la varianza condicional:

$$V(y) = V(E(y|x_i)) + E(V(y|x_i)) \quad (6)$$

$$V(y) = V(E(y|x_{-i})) + E(V(y|x_{-i})) \quad (7)$$

Donde V y E corresponden los operadores de varianza y valor esperado, respectivamente. En la Ec.(8), $V(E(y|x_i)) = V_i$ calcula la varianza (sobre todas las posibles realizaciones del parámetro x_i) del valor esperado condicional de la variable de estado y bajo todas las variaciones de los parámetros, excepto de x_i . Esto representa la reducción esperada de la varianza de la variable de estado que se podría obtener si x_i tuviera un valor conocido y fijo, es el efecto de primer orden asociado al parámetro x_i . El segundo término $E(V(y|x_i))$, es el valor esperado (sobre todas las realizaciones del parámetro x_i) de la varianza condicional de la variable de estado y bajo todas las variaciones de los parámetros, excepto de x_i . El mismo representa la varianza promedio de la variable de estado que quedaría si x_i fuera conocido.

Lo mismo es aplicable a la Ec. (9), reemplazando x_i por “todos los parámetros excepto x_i ” (x_{-i}). De esta manera, el término $E(V(y|x_{-i})) = V_i^{TOT}$ calcula la varianza promedio de la variable de estado que quedaría si todos los parámetros excepto x_i fueran conocidos o fijos; i.e., toma en cuenta todos los términos de la Ec. (3) que incluyen x_i para el caso de los parámetros ortogonales.

Si las ecuaciones (8) y (9) se dividen por la varianza incondicional, se obtienen las siguientes expresiones:

$$1 = \frac{V(E(y|x_i))}{V(y)} + \frac{E(V(y|x_i))}{V(y)} \quad (8)$$

$$1 = \frac{V(E(y|x_{-i}))}{V(y)} + \frac{E(V(y|x_{-i}))}{V(y)} \quad (9)$$

El índice de sensibilidad de primer orden, S_i , y el índice total de sensibilidad S_i^{TOT} se definen como:

$$S_i = \frac{V(E(y|x_i))}{V(y)} = \frac{V_i}{V(y)} \quad (10)$$

$$S_i^{TOT} = \frac{E(V(y|x_{-i}))}{V(y)} = \frac{V_i^{TOT}}{V(y)} \quad (11)$$

Ambos, S_i y S_i^{TOT} miden el efecto de la variación de los parámetros en las variables de salida del modelo. Si proporciona la reducción en la varianza incondicional de la variable de estado que se obtiene si el parámetro x_i es fijo y verdadero. Por otro lado, S_i^{TOT} tiene en cuenta las interacciones entre los parámetros, por lo tanto proporciona información sobre la parte no-aditiva del modelo.

En general, $\sum_{i=1}^k S_i < 1$ y $S_i < S_i^{TOT}$. Sin embargo, para un modelo puramente aditivo y con entradas ortogonales, $\sum_{i=1}^k S_i = 1$, esto puede observarse si la Ec. (7) se divide por $V(y)$ y los términos de interacción son cancelados.

Un índice adicional, S_i^{int} toma en cuenta los efectos de las interacciones entre los parámetros del modelo y se puede calcular como:

$$S_i^{int} = S_i^{TOT} - S_i \quad (12)$$

En resumen, cuando S_i tiene un valor elevado, x_i es un parámetro influyente; cuando S_i y S_i^{TOT} son muy diferentes, hay interacciones importantes entre x_i y los otros parámetros; cuando S_i y S_i^{TOT} son aproximadamente iguales, hay poca o prácticamente no hay interacción entre x_i y los otros parámetros; cuando S_i y S_i^{TOT} tienen valores bajos, x_i no es un parámetro influyente (ni solo ni en relación a los otros parámetros).

Sobol'(2001) ha propuesto una metodología para calcular índices de sensibilidad basados en simulaciones de Monte Carlo, con una cantidad mínima de evaluaciones de función. Los pasos principales para los casos dinámicos son los siguientes:

1. Generación de dos sets diferentes y aleatorios de parámetros del modelo: $\xi=(\eta,\zeta)$ y $\xi'=(\eta',\zeta')$ en cada instante de tiempo. Cada matriz tiene dimensión $N \times k$, donde N es el número de escenarios para el método de Monte Carlo y k es el número de parámetros; η es un vector de dimensión $N \times 1$, que contiene N valores

aleatorios para el parámetro x_i cuyo índice de sensibilidad se va a calcular, y ζ es una submatriz de dimensión $N \times (k-1)$ que contiene valores aleatorios para los $k-1$ parámetros restantes.

2- Generación de dos nuevas matrices por combinación de ξ y ξ' , que se requieren para el cálculo de los valores esperados dependientes del tiempo de las variables de estado, las composiciones, ($c_0(t)$ representa $E(c(t)|x_i)$) y las varianzas incondicionales ($V(t)$), en cada instante de tiempo t , así como las varianzas condicionales ($V(t)_i$ representan $V(E(c(t)|x_i))$ y $V(t)_{-i}$ representan $V(E(c(t)|x_{-i}))$):

$$c_0(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N c(t, \xi_i) \quad (13)$$

$$V(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N c^2(t, \xi_i) - c_0^2(t) \quad (14)$$

$$V(t)_i = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N c(t, \xi_i)c(t, \eta_i, \zeta'_i) - c_0(t, \xi_i)c_0(t, \xi'_i) \quad (15)$$

$$V(t)_{-i} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N c(t, \xi_i)c(t, \eta'_i, \zeta_i) - c_0^2(t) \quad (16)$$

3- Los perfiles de índices de sensibilidad se calculan por las definiciones dadas previamente a lo largo de todo el horizonte de tiempo.

3 Resultados numéricos

En el presente estudio se ha aplicado Análisis de Sensibilidad Global (GSA), como se describió en la sección anterior a un proceso de fermentación dinámico con la utilización de la levadura modificada genéticamente. El proceso se lleva a cabo en un reactor batch homogéneo agitado en fase líquida. En el caso de utilizarse un reactor heterogéneo deberían tenerse en cuenta los efectos de transferencia de masa entre las distintas fases dentro del modelo.

El modelo comprende las siguientes ecuaciones:

$$\mu_g = \frac{\mu_{mg}S_g}{K_g + s_g + (s_g^2/K_{i,g})} \left\{ 1 - \left(\frac{p_g}{p_{mg}} \right)^{\phi_g} \right\} \quad (17) \quad r_p = (v_g + v_x)x \quad (23)$$

$$\mu_x = \frac{\mu_{mx}S_x}{K_x + s_x + (s_x^2/K_{i,x})} \left\{ 1 - \left(\frac{p_x}{p_{mx}} \right)^{\phi_x} \right\} \quad (18) \quad r_{sg} = \frac{1}{Y_{p/s_g}} v_g x \quad (24)$$

$$\mu_{mix} = \frac{s_g}{s_g + s_x} \mu_g + \frac{s_x}{s_g + s_x} \mu_x \quad (19) \quad r_{sx} = \frac{1}{Y_{p/s_x}} v_x x \quad (25)$$

$$v_g = \frac{v_{mg}S_g}{K'_g + s_g + (s_g^2/K'_{i,g})} \left\{ 1 - \left(\frac{p_g}{p'_{mg}} \right)^{\phi_g} \right\} \quad (20) \quad \chi_g = 1 - \frac{S_g}{\lambda s_f} \quad (26)$$

$$v_x = \frac{v_{mx}S_x}{K'_x + s_x + (s_x^2/K'_{i,x})} \left\{ 1 - \left(\frac{p_x}{p'_{mx}} \right)^{\phi_x} \right\} \quad (21) \quad \chi_x = 1 - \frac{S_g}{(1 - \lambda)s_f} \quad (27)$$

$$r_x = \mu_{mix}x \quad (22)$$

La nomenclatura corresponde a Wang et al.

El análisis de sensibilidad global en un sistema diferencial algebraico a gran escala ha requerido un gran esfuerzo computacional. Como primer paso, se realizó un análisis local de sensibilidad para reducir la cantidad de parámetros inciertos. Con esto, se logró detectar los parámetros que mostraban mayor influencia en las salidas. Luego se ha asociado una distribución de probabilidad normal a cada uno dichos parámetros, que se presentan en la Tabla 1, junto con su valor nominal (VN) (Tsao, 1999) y desviaciones estándar (DE).

Parámetro	Nomenclatura	VN	DE
Coefficiente de Rendimiento de etanol a partir de glucosa	Y_{p/s_g}	0.470	0.059
Coefficiente de Rendimiento de etanol a partir de xilosa	Y_{p/s_x}	0.400	0.050
Velocidad máxima de crecimiento de biomasa a partir de glucosa (h^{-1})	μ_{mg}	0.662	0.083
Velocidad máxima de crecimiento de biomasa a partir de xilosa (h^{-1})	μ_{mx}	0.190	0.024

Parámetro	Nomenclatura	VN	DE
Velocidad máxima de producción de etanol a partir de glucosa (h^{-1})	v_{mg}	2.005	0.251
Velocidad máxima de producción de etanol a partir de xilosa (h^{-1})	v_{mx}	0.250	0.031
Relación entre la concentración de glucosa y concentración de sustrato total inicial	λ	0.650	0.081

Tabla 1. Parámetros inciertos y sus distribuciones normales.

Como se puede ver en la Fig.1, para la concentración de biomasa, los índices de sensibilidad más influyentes corresponden tanto al coeficiente de rendimiento de etanol a partir de glucosa como de xilosa para tiempos de reacción bajos. Luego se puede observar una influencia baja de todos los parámetros en la variable analizada.

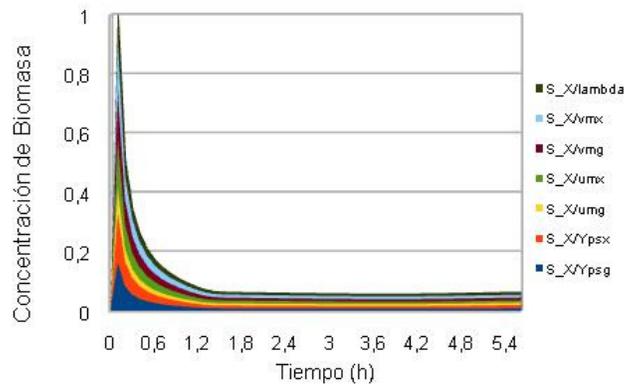


Figura 1. Índices de sensibilidad de primer orden para la concentración de biomasa en el fermentador.

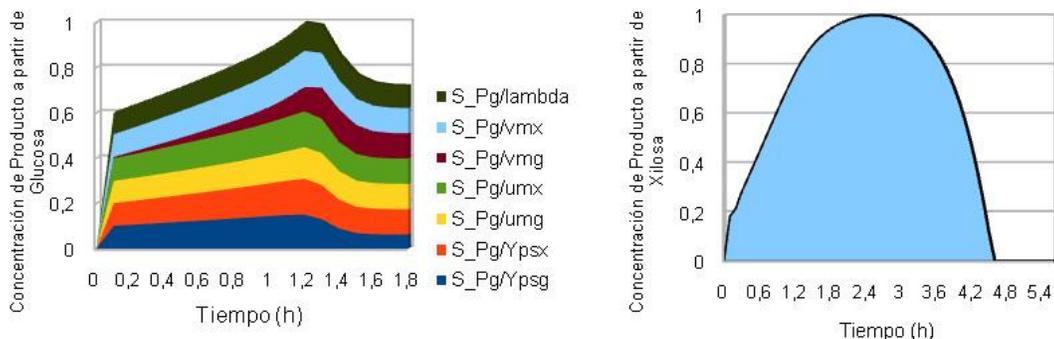


Figura 2. Índices de sensibilidad de primer orden para la concentración de sustratos en el fermentador.

La Fig. 2 muestra los índices de sensibilidad para la concentración de sustratos; se puede apreciar que en este caso el parámetro λ es el más influyente para los dos sustratos. En el caso de la concentración de glucosa, también se destacan los coeficientes de rendimiento de etanol.

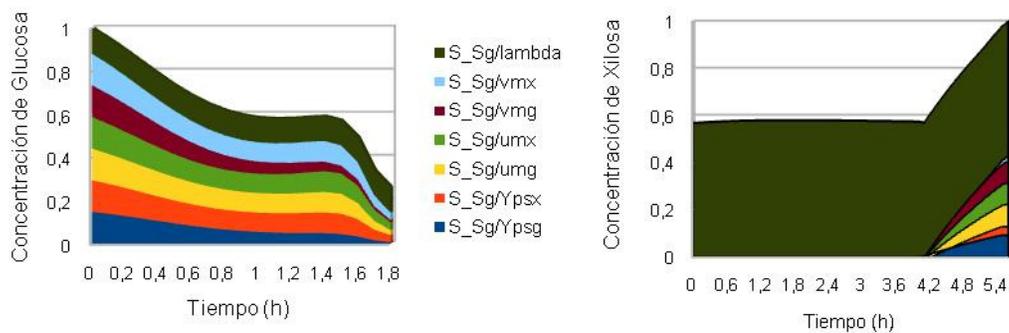


Figura 3. Índices de sensibilidad de primer orden para la concentración de producto a partir de los distintos sustratos.

Como se puede apreciar en la Fig.3, que muestra los índices de sensibilidad para la concentración de producto, el parámetro más influyente en el caso en que el producto se obtiene por xilosa es claramente la velocidad máxima de producción de etanol a partir de xilosa. En el caso en que el sustrato es glucosa, los coeficientes de rendimiento son lo más influyente, seguidos por los coeficientes de velocidad máxima de crecimiento de biomasa.

Por último, en las Fig. 4 muestran los índices de sensibilidad de primer orden para variables algebraicas del modelo: la conversión de glucosa y de xilosa. En ambos casos se puede observar que el mayor aporte está dado por el índice de sensibilidad del parámetro λ . En la conversión de xilosa, el parámetro que le sigue en importancia es la velocidad máxima de producción de etanol a partir de xilosa.

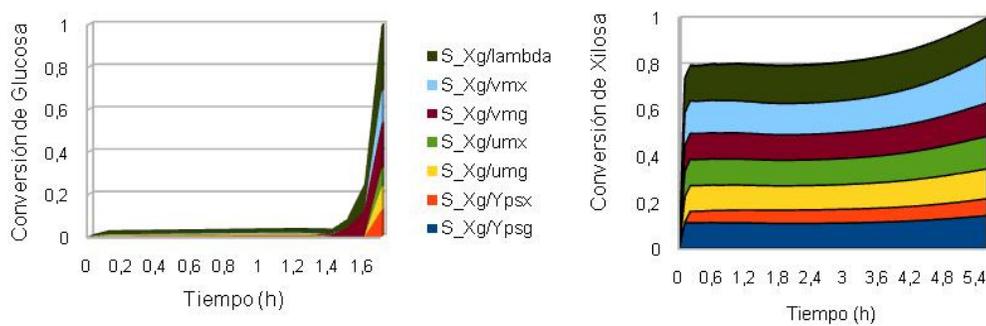


Figura 4. Índices de sensibilidad de primer orden para la conversión de glucosa y xilosa.

Por otro lado, al analizar los índices de interacción, se aprecia que el parámetro más relevante en este aspecto es λ .

Las simulaciones estocásticas se llevaron a cabo en gPROMS (PSEnterprise, 2009), así como el cálculo de las varianzas condicionales e incondicionales y de los índices de sensibilidad para cada instante de tiempo para un horizonte de 5.6 horas.

4 Conclusiones

El estudio de sensibilidad global se ha aplicado al proceso de fermentación de distintos sustratos utilizando la levadura genéticamente modificada capaz de producir bioetanol a partir de glucosa y xilosa. Los índices de sensibilidad de primer orden, totales y de interacción para las variables de estado diferenciales y algebraicas fueron calculados con el método propuesto por Sobol' (1990) de simulaciones Monte Carlo. Se puede observar que los parámetros más influyentes del modelo son: la relación entre la concentración de glucosa y concentración de sustrato total inicial (λ), seguida por los coeficientes de rendimiento de etanol a partir de glucosa y xilosa ($Y_{p/sg}-Y_{p/sx}$), y por último la velocidad máxima de producción de etanol a partir de xilosa (v_{mx}). Los resultados obtenidos facilitan la clasificación de parámetros más influyentes para su posterior estimación basada en datos experimentales.

Referencias

1. Campolongo, F., Cariboni, J., Saltelli, A., 2007. An effective screening design for sensitivity analysis of large models. *Environmental Modelling & Software* 22 1509-1518.
2. Cariboni, J., Gatelli, D., Liska, R., Saltelli, A., 2007. The role of sensitivity analysis in ecological modelling. *Ecological Modelling* 203 167-182.
3. Synthesis, Design and Operation, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2004, 43, 4211-4219
4. Cukier, R.I., Fortuin, C.M., Shuler, K.E., Petschek, A.G., Schaibly, J.H., 1973. Study of the sensitivity of coupled reaction systems to uncertainties in rate coefficients. *Journal of Chemical Physics* 59 3873-3878.
5. Cukier, R.I., Levine, H.B., Shuler, K.E., 1978. Nonlinear Sensitivity analysis of multiparameter model systems. *Journal of Computational Physics*. 26, 1-42.
6. Homma, T., Saltelli, A. 1996. Importance measures in global sensitivity analysis of nonlinear models. *Reliability Engineering & System Safety* 52 1-17.
7. Koda, M., Dogru, A. H., Seinfeld, J. H., 1979b. Sensitivity analysis of partial differential equations with application to reaction and diffusion processes. *Journal of Computational Physics*. 30 259-282.
8. Koda, M., McRae, G.J., Seinfeld, J.H., 1979a. Automatic sensitivity analysis of kinetic mechanisms. *International Journal of Chemical Kinetics*. 11 427-444.
9. Liepmann, D., Stephanopoulos, G., 1985. A dynamic model of a closed ecosystem: development and global sensitivity analysis. *Ecological Modelling* 30 13-30.
10. Morris, M. D., 1991. Factorial sampling plans for preliminary computational experiments. *Technometrics* 33 161-174.

2do Simposio Argentino de Informatica Industrial, SII 2013

11. Process Systems Enterprise, gPROMS Introductory User guide, Process Systems Enterprise Ltd., London, 2007.
12. Saltelli, A., Ratto, M., Andres, T., Campolongo, F., Cariboni, J., Gatelli, D., Saisana, M., Tarantola, S., 2008. Global Sensitivity Analysis. The Primer. John Wiley & Sons Publishers.
13. Saltelli, A., Sobol', I.M., 1995. About the use of rank transformation in sensitivity analysis of model output. *Reliability Engineering and System Safety* 50 225-239.
14. Saltelli, A., Tarantola, S., 2002. On the relative importance of input factors in mathematical models: safety assessment for nuclear waste disposal. *Journal of the American Statistical Association*. 97 702-709.
15. Saltelli, A., Tarantola, S., Campolongo, F., Ratto, M., 2004. Sensitivity Analysis in Practice. A Guide to Assessing Scientific Models. In: Probability and Statistics Series. John Wiley & Sons Publishers.
16. Saltelli, A., Tarantola, S., Chan, K., 1999. Quantitative model-independent method for global sensitivity analysis of model output. *Technometrics* 41 39-56.
17. Sobol', I. M., 1990. Sensitivity estimates for nonlinear mathematical models. *Matematicheskoe Modelirovanie* 2 112-118 in Russian, translated in English in Sobol' (1993). *Mathematical Modelling and Computational Experiment* 1 407-414.
18. Sobol, I.M.. Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates, *Mathematics and Computers in Simulation* 55, 2001, 271-280.
19. Sobol', I. M., 2001. Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates. *Mathematics and Computers in Simulation* 55 271-280.
20. Sobol', I.M., Levitan, Y.L., 1999. On the use of variance reducing multipliers in Monte Carlo computations of a global sensitivity index. *Computer Physics Communications* 117 52-61.
21. Tsao, G.T., Krishnan, M.S., Ho, N.W.Y., Fermentation Kinetics of Ethanol Production from Glucose and Xylose by Recombinant *Saccharomyces* 1400 (pINH33), *Applied Biochemistry and Biotechnology* 78, 1999, 373-388.
22. Wang, F-S., Chen, M-L., Optimal trade-off desing of integrated fermentation processes for ethanol production using genetically engineered yeast, *Chemical Engineering Journal* 158, 2010, 271-280.
23. J. Zaldivar, J. Nielsen, L. Olsson, Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56 (2001) 17-34.