ANAIS

USO DE PATENTES COMO FERRAMENTA PARA MAPEAR O DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO EM ETANOL SINTÉTICO

ANTONIO LUIZ FANTINEL
tonifantinel@gmail.com
UFRGS

ROGÉRIO MARGIS
rogerio.margis@ufrgs.br
UFRGS

EDSON TALAMINI
edson.talamini@ufrgs.br
UFRGS

HOMERO DEWES
hdewes@ufrgs.br
UFRGS

RESUMO: Em meio a sérias preocupações sobre a mudança climática novas plataformas utilizando microorganismos modificados via ferramentas de biologia sintética vem sendo desenvolvidas para produção de biocombustíveis, sem a competição direta com a produção de alimentos. Essas biofábricas apresentam vantagens significativas e promissoras em comparação a primeira geração de biocombustíveis. Desta forma, o objetivo deste artigo foi analisar documentos de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética. As buscas foram realizadas na plataforma Questel Orbit, abrangendo os últimos vinte anos de deposito (1998-2018). Um total de 4.131 famílias de patentes foram validados de acordo com o objetivo da pesquisa e cuidadosamente estudados. Os resultados mostram um aumento na tendência de patenteamento em etanol com abordagem de biologia sintética no período analisado, tendo os Estados Unidos e China, com o maior número de famílias de patentes por prioridade. A pesquisa também mostra que os cessionários com o maior número de famílias de patentes por prioridade são a Novozime e o MIT. A busca por patentes nessa área tecnológica está relacionada principalmente a modificação de bactérias para introdução de material genético exógeno (C12N-001/21) e engenharia genética em células vegetais (C12N-015/82). Os resultados fornecem aos pesquisadores uma melhor compreensão do desenvolvimento tecnológico, ajudando no desenvolvimento de novas pesquisas e projetos no campo.

PALAVRAS CHAVE: Produção microbiana, Vias Biosintética, Ciência da informação.

ABSTRACT: Amid serious concerns about climate change new platforms, using microorganisms modified via synthetic biology tools have been developed for biofuel production without direct competition with food production. These biofactories have significant and promising advantages compared to the first generation of biofuels. In this way, the objective of this article was to analyze patent documents in ethanol with a synthetic biology approach. The searches were carried out on the Questel Orbit platform, covering the last twenty years of deposit (1998-2018). A total of 4,131 patent families were validated according to the purpose of the research and carefully studied. The results show an increase in the patenting trend in ethanol with a synthetic biology approach in the analyzed period, with the United States and China having the highest number of patent families by priority. The survey also shows that the assignees with the largest number of patent families by priority are Novozime and MIT. The search for patents in this technological area is mainly related to the modification of bacteria to introduce exogenous genetic material (C12N-001/21) and genetic engineering in plant cells (C12N-015/82). The results provide researchers with a better understanding of technological development, helping in the development of new research and projects in the field.

KEY WORDS: Microbial production, Biosynthetic pathways, Information science.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a maioria dos biocombustíveis produzidos são classificados de primeira geração (FGBs) (DEMIRBAS, 2011), utilizando em seu processo de produção partes comestíveis de plantas como fonte de matéria-prima. (BALAT, 2011). Essa dependência faz emergir calorosas discussões relacionadas a competições entre produção de biocombustíveis versus alimentos (HARVEY; PILGRIM, 2011; KOIZUMI, 2014, 2015), no qual sua produção pode afetar diretamente a segurança alimentar (PERALTA-YAHYA et al. 2012; TOMEI AND HELLIWELL 2016; KOIZUMI 2014) e o uso da terra (CARLSON et al. 2012).

Pensando nisso, inúmeros pesquisadores vêm ensejando esforços no desenvolvimento de microorganismos utilizando ferramentas de biologia sintética e abordagens de engenharia metabólica que possam ser utilizadas como fábricas vivas (LÜ; SHEAHAN; FU, 2011; DUTTA; DAVEREY; LIN, 2014), visando produzir combustível, ou qualquer outro produto útil (BERLA et al., 2013). Entre os biocombustíveis promissores produzidos por microorganismos modificados está o etanol (LEE et al. 2008; TSAI et al. 2010; DELLOMONACO et al. 2010; LIU et al. 2013; ENQUIST-NEWMAN et al. 2014; MORENO et al. 2017; DINIZ et al. 2017; BILAL et al. 2018). Microrganismos como as leveduras desempenham um papel essencial na produção de etanol pela fermentação de uma ampla gama de açúcares ao etanol (AZHAR, et al. 2017). Entre elas a utilização de biomassa lignocelulósica (LEE et al. 2008). A utilização dessa fonte de açúcar possibilita a não dependência de recursos agrícolas comumente usados em alimentos, como milho, cana-de-açúcar, soja e óleo de palma. Aliando a ser um biopolímero abundante no globo que pode ser projetado para produzir substitutos de combustíveis fósseis (LEE et al. 2008). Também vale ressaltar a importância de outros microorganismos potencialmente produtores de etanol, tais como microalgas (XIA et al, 2016; FARIAS SILVA et al, 2019; NGAMSIRISOMSAKUL et al. 2019), cianobactérias (FARIAS SILVA et al, 2019), e bactérias (JOJIMA et al., 2015; MARU et al, 2016; PÉREZ-PIMIENTA et al 2017).

As vantagens em comparação a primeira geração de biocombustíveis são inegáveis. Todavia, até o momento a produção de biocombustíveis em microorganismos não parece ser uma alternativa econômica imediata, devido aos baixos rendimentos, títulos e produtividade em processos industriais (RAHMAN et al. 2016; KHETKORN et al. 2017). Entretanto, a utilização dessas fábricas vivas sintéticas para a produção de biocombustíveis avançados não deve ser negligenciada, dada sua importância para solucionar a competição com a produção de alimentos, uso da água e da terra. (GEORGIANNA; MAYFIELD, 2012).

A necessidade de compreendermos os avanços ferramentais de biologia sintética para a construção e manipulação de microorganismos para produção de etanol é cada vez necessário. E a melhor forma de conhecermos os avanços que reverbera os conceitos tecnológicos dessa nova forma de produção é por meio de dados de patentes. Assim, o presente trabalho tem como

objetivo realizar um estudo prospectivo relacionado ao desenvolvimento tecnológico em etanol com abordagem de biologia sintética a nível mundial. Para tal, foi realizado um levantamento das patentes nos últimos vinte anos (1998-2018), usando o sistema de base Questel Orbit.

2. REVISÃO TEÓRICA

2.1. *Biologia sintética*

Falar e conceituar biologia sintética não é uma tarefa muito fácil, pois, trata-se de um campo científico relativamente novo, que combina os princípios da biologia e engenharia. Em sua essência, o termo biologia sintética estava diretamente ligado aos esforços para "redesenhar a vida" (BENNER, 2003). Com o passar dos anos a área vem passando por diferentes estágios, objetivos e aplicações.

A biologia sintética está emergindo como uma importante disciplina, com potencial de impactar em diferentes áreas do conhecimento e da indústria (criação de novos recursos terapêuticos, materiais, biossensores e produtos de alto valor). A aplicação das ferramentas de biologia sintética traz benefícios no reconhecimento e destruição de tumores e doenças (BENNER, 2003), produção de substâncias de alto valor (LEE, et al. 2012), descontaminação (CASES; LORENZO, 2005; BARAK et al., 2006; SOMERVILLE et al., 2010), e produção de biocombustíveis avançados (VENTER, 2005; LEE et al. 2008; ATSUMI et al. 2008; ATSUMI, HANAI; LIAO, 2008; RUDE; SCHIRMER, 2009; CHOU et al. 2009; DUNLOP et al. 2011)

2.2. Biocombustíveis

Os biocombustíveis líquidos podem ser classificados com base em suas tecnologias de produção, sendo separada em biocombustíveis de primeira geração (FGBs), biocombustíveis de segunda geração (SGBs); biocombustíveis de terceira geração (TGBs); e biocombustíveis de quarta geração (FGBs) (DEMIRBAS, 2011).

2.2.1. Biocombustíveis de 1ª geração - FGBs

Atualmente a maioria dos biocombustíveis produzidos é de FGBs, derivados de frações comestíveis de plantas alimentícias a partir de açúcar, amido, óleo vegetal ou gorduras animais usando tecnologias convencionais de processamento. As principais matérias-primas são o milho, cana-de-açúcar, soja, canola e girassol (CHERUBINI, 2010; BALAT, 2011). Apesar de serem de grande importância para geração de emprego e renda nas áreas rurais (STEVENS; VERHE, 2004), são alvos de constantes críticas, fazendo surgir inúmeras discussões sua competição com a produção de alimentos (HARVEY; PILGRIM, 2011; KOIZUMI, 2014,

2015), uso da terra (GURGEL; REILLY; PALTSEV, 2007; FARGIONE et al., 2008; MOSNIER et al., 2013).

2.2.2 Biocombustíveis de 2ª geração - SGBs

A segunda geração (SGBs), assim chamados os combustíveis provenientes de matérias-primas lignocelulósicos e não alimentares, tais como a palha, bagaço, resíduo florestal e culturas energéticas (NAIK et al., 2010; ZABANIOTOU; IOANNIDOU; SKOULOU, 2008; HEAP, 2012), surgindo na esperança de maximizar a produção de biocombustíveis frente as fontes fósseis, minimizando as emissões de CO_2, menor demanda de área agricultável, e consequentemente menor concorrências com a produção de alimentos (CARRIQUIRY et al., 2011). Entretanto, não foi completamente isso que ocorreu, apesar dos inúmeros esforços para solucionar os problemas da geração anterior de biocombustíveis, continuando de certa forma a concorrência com a produção de alimentos, pois, as novas matérias-primas não alimentícias continuam a ser cultivadas em terras férteis (KOIZUMI, 2014).

2.3.3 Biocombustíveis de 3ª geração - TGBs

Os biocombustíveis de terceira geração, assim chamados os combustíveis de algas (Gouveia; Oliveira, 2008), são radicalmente novos e oriundos de processos biológicos. A produção de biocombustíveis via algas explora a capacidade de microrganismos em produzir grandes quantidades de ácidos graxos utilizando apenas a luz solar, dióxido de carbono e água (WALTER et al., 2005; SINGH et al., 2005; CHISTI, 2007; NIGAM; SINGH, 2011).

Para Suali e Sarbatly (2012), o rendimento em lipídios em peso seco de algas é de aproximadamente 70%. As algas podem ser convertidas em bioetanol, biodiesel, biogás e bio-hidrogênio (KRAAN, 2013), sendo vistas como uma fonte atraente e promissora, podendo preencher a lacuna na matriz energética de maneira sustentável (SARSEKEYEVA et al., 2011).

2.2.4 Biocombustíveis de 4ª geração - FGBs

O desenvolvimento da engenharia metabólica e da biologia sintética faz surgir à quarta geração de biocombustíveis (LÜ; SHEAHAN; FU, 2011; DUTTA; DAVEREY; LIN, 2014). O projeto e construção de fábricas de células em biologia industrial requer um o trabalho conjunto dessas biotecnologias. Muitas vezes o rendimento e produtividade inicial após a reconstrução de vias completamente sintéticas em microorganismos é baixo, e por meio de ferramentas de engenharia metabólica o fluxo de carbono é redirecionado para o metabolito percursor, até que haja um fluxo adequado de produto no microorganismo, tornando-o eficiente na atividade

projetada (NIELSEN; KEASLING, 2011; JULLESSON et al. 2015), o que torna esses dois campos sinérgicos (STEPHANOPOULOS 2012).

Além de rendimento, títulos e produtividade elevada, um microorganismo hospedeiro adequado para um cenário industrial deve apresentar tolerância osmótica, ampla tolerância ao pH e impacto mínimo sobre o meio ambiente (CLOMBURG; GONZALEZ, 2010). Dessa forma a maioria das vias sintéticas é projetada em hospedeiros de fácil manipulação (ATSUMI; LIAO, 2008). *E. coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, são cepas hospedeiras amplamente utilizadas como fábricas vivas em função das suas características desejáveis (JULLESSON et al. 2015). Outros microorganismos também vêm sendo estudadas no intuito de superar as dificuldades das fábricas de células modelos. Um exemplo são os organismos fotossintéticos (ATSUMI; HIGASHIDE; LIAO, 2009; MACHADO; ATSUMI, 2012; KOPF; HESS, 2015; KOPF et al. 2014) que utilizam CO_2 de forma direta, e os metanotróficos, que possibilitam a utilização de gás natural como fonte de carbono (LIAO et al. 2016; JIANG et al. 2010; STRONG et al. 2015; LEE et al. 2016).

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O artigo apresenta uma análise do panorama geopolítico e tecnológico em etanol com abordagem de biologia sintética utilizando o sistema de base Questel Orbit, (LAMBERT, 2004; FANTINEL et al., 2015; FANTINEL et al., 2017).

A utilização de ferramentas de prospecção tecnológica serve como indicadores para avaliar o desenvolvimento de diferentes comunidades de pesquisa e campos tecnológicos (NARIN 1998), sendo relevante para os processos de tomada de decisão nos diversos níveis na sociedade (MAYERHOFF, 2008).

O sistema de busca Orbit dá acesso à base de dados da FAMPAT. Esta base de dados cobre publicações de patentes, em todos os segmentos tecnológicos, de 90 escritórios nacionais incluindo o INPI brasileiro e 6 escritórios regionais (EPO, WIPO, OAPI, ARIPO, EAPO e CGC). As publicações são agrupadas em famílias de patentes (AXONAL, 2015).

Assim, adotamos a seguinte estrutura de recuperação avançada na base de dados Questel Orbit: "synthetic biology" OR "Metabolic engineering" and ethanol OR bioethanol. As palavras chaves foram inseridas nos campos de conceitos, título, resumo e reivindicações. A classificação utilizada foi a IPC (International Patent Classification), em vigor desde 1968 (INPI, 2014).

A consulta resultou em um total de 4.131 famílias de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética entre 1998 a 2018. Posteriormente procedeu-se com tratamento estatístico utilizando a ferramenta *analyze*, permitindo o cruzamento de dados como depositantes, classificações (IPC), distribuição geográfica, cobertura temporal dos dados e análise semântica das patentes. Posteriormente ocorreu a exportação dos dados para o programa SigmaPlot para

construção de um relatório de pesquisa que consolida e apresenta as informações recuperadas e analisadas sobre tendências do patenteamento em etanol por biologia sintética.

4. RESULTADOS

4.1. Evolução dos depósitos de famílias de patentes

O primeiro passo da análise é mostrar a evolução dos depósitos de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética nos últimos 20 anos (1998-2018) (Figura 1). O número de famílias de patentes é apresentado pelas barras de cinza. Um total de 4.131 famílias de patentes foram depositadas nos últimos vinte anos (1998-2018). O período analisado apresenta um aumento na tendência de patenteamento mostrando pela linha tracejada de cor vermelha, mostrando o interesse contínuo dos atores no campo analisado. Verificam-se também picos de deposito (2012-2013) e (2015-2016). Os dois últimos anos apresentam números reduzidos de patentes depositadas, isso é justificado devido ao atraso de 18 meses entre o preenchimento de um requerimento e sua publicação.

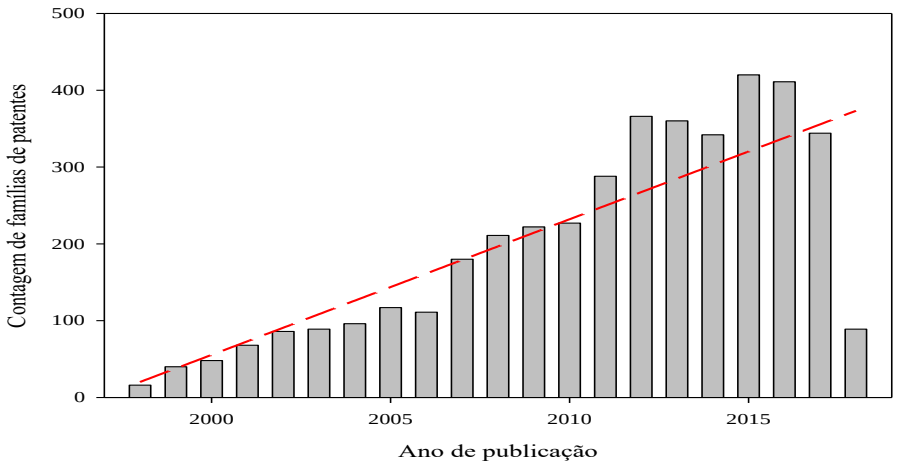

FIGURA 1. Evolução dos pedidos de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética nos últimos 20 anos (1998-2018). Fonte Orbit, 2019.

4.2. Distribuição de resultados de pesquisa por famílias de patentes por país

Ao analisar a proporção de pedidos de patente em etanol com abordagem de biologia sintética para países (Figura 2), observa-se que os Estados Unidos, China, Espanha, Índia e Brasil são os cinco principais países em deposito de patentes. Os Estados Unidos lideram com 1.598 famílias de patentes depositadas prioritariamente em seu país, seguido pela China com 1.140 famílias de patentes. Ainda, entre os cinco principais países, aparece Espanha, com 1.011 famílias de patentes, Índia, com 611 e o Brasil com 592 famílias de patentes depositadas.

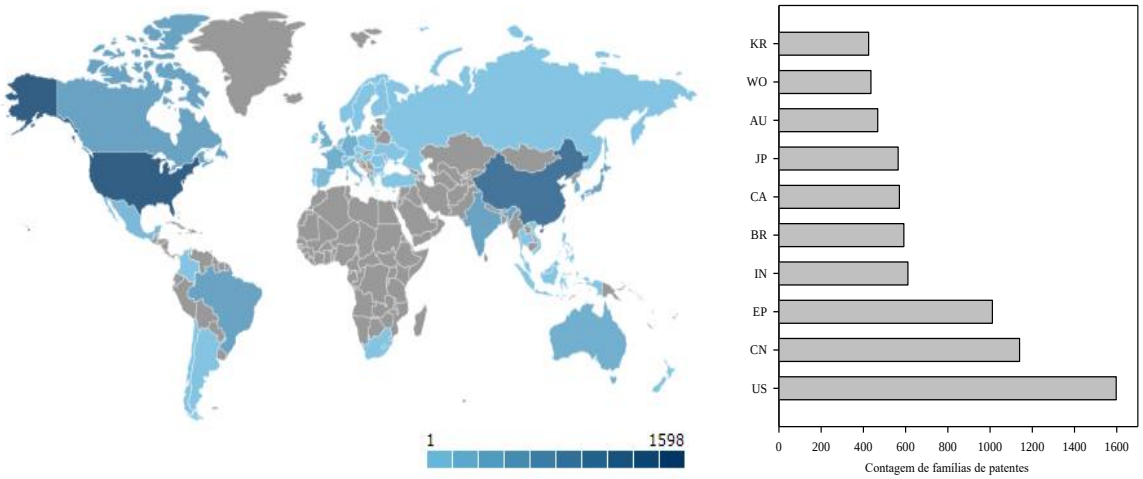

Figura 2. Mapa mundial da cobertura de famílias de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética. Fonte Orbit, 2019.

4.3. Domínio tecnológico

O domínio tecnológico para as patentes em etanol com abordagem de biologia sintética é apresentado na Figura 3. As categorias são baseadas na Classificação Internacional de Patentes (IPC). Os códigos IPC foram agrupados em 35 campos tecnológicos. Todavia, uma família de patente pode ser classificada em mais de um código segundo o IPC, dessa forma a mesma patente poderá aparecer em vários domínios do conhecimento. Observa-se que 89% das patentes estão classificadas no campo da biotecnologia, seguido por química orgânica fina (19%) e química de alimentos (18%).

FIGURA 3. Domínio do conhecimento em etanol com abordagem de biologia sintética. Fonte Orbit, 2019.

4.4. Distribuição das famílias de patentes segundo o IPC

Os dados dos dez principais códigos segundo a Classificação Internacional de Patentes (IPC) em etanol com abordagem de biologia sintética estão apresentados na figura 4. Os cinco maiores códigos utilizados para classificar as patentes são da classe C12N, ou seja, micro-organismos ou enzimas ou suas composições; propagação, conservação, ou manutenção de micro-organismos; engenharia genética ou de mutações e meios de cultura. O maior código detentor de depósitos (224 famílias) é classificado como C12N-001/21, descrito como bactérias modificadas pela introdução de material genético exógeno. O segundo maior código (209 famílias) é classificada como C12N-015/82, descrito como engenharia genética em células vegetais. O terceiro código, com 151 famílias de patentes é C12N-015/09, descrito como mutação ou engenharia genética por tecnologia de DNA recombinante. O código C12N-001/19, descrita como leveduras modificadas pela introdução de material genético exógeno é o quarto maior, com 124 famílias de patentes. O código C12N-001/20 descrito com bactéria e seus meios de cultura é o quinto maior, com 121 famílias de patentes. O Quadro 2 apresenta a descrição dos dez principais códigos com maior número de famílias de patentes, seguindo a classificação IPC. A ordem segue a sequência do IPC.

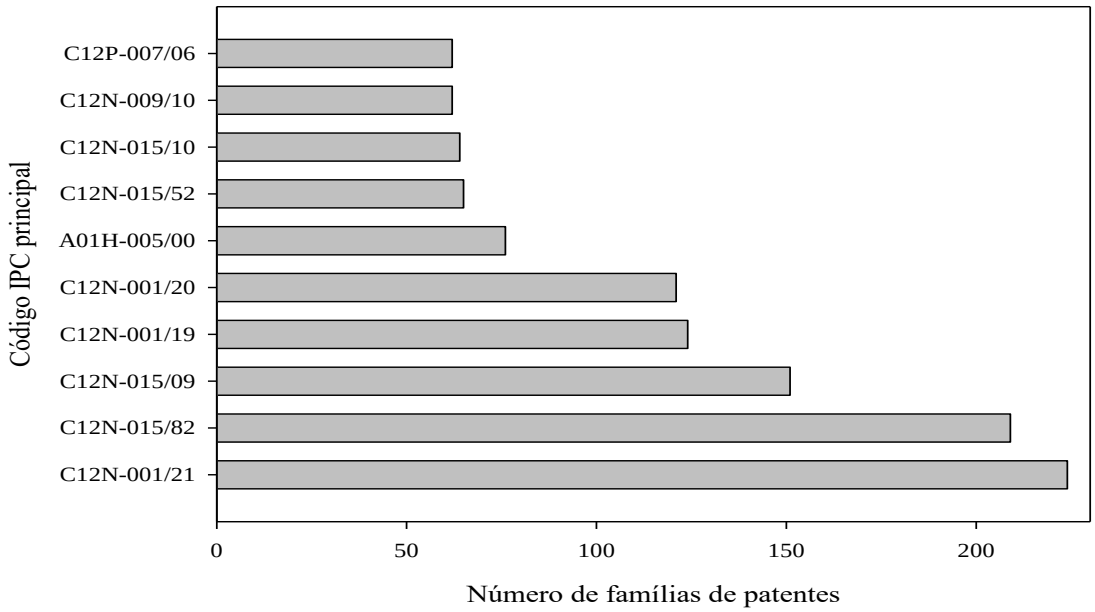

FIGURA 4. Códigos IPC com os principais conceitos de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética. Fonte Orbit, 2019.

TABELA 2. Códigos IPC com os principais conceitos de patentes em etanol com abordagem de biologia sintética.

Códigos IPC	Descrição do código	Nº famílias
C12N-001/21	Bactérias modificadas pela introdução de material genético exógeno	224
C12N-015/82	Engenharia genética em células vegetais	209
C12N-015/09	Mutação ou engenharia genética por tecnologia de DNA recombinante	151
C12N-001/19	Leveduras modificadas pela introdução de material genético exógeno	124
C12N-001/20	Bactéria e seus meios de cultura	121
A01H-005/00	Desenvolvimento de plantas da espécie Angiospermas	76
C12N-015/52	Engenharia genética para o isolamento, preparação ou purificação do DNA ou RNA	65
C12N-015/10	Processos para o isolamento, preparação ou purificação do DNA ou RNA	64
C12N-009/10	Processos para preparar, ativar, inibir, separar, ou purificar enzimas por Transferases.	62
C12P-007/06	Produção de etanol, não para bebida	62

4.5.Distribuição da atividade de depósito de patentes por cessionário

O portfólio de depositantes em patentes em etanol com abordagem de biologia sintética é apresentado na Figura 5. O principal depositante é a empresa dinamarquesa Novozimes, com 180 depósitos de patentes. A empresa possui domínio sobre o mercado mundial de enzimas. Na sequência aparecem o MIT (Massachusetts Institute of Technology), com 133 famílias e a Universidade da Califórnia com 128 famílias de patentes. Ambas possuem centros de pesquisa científica e tecnológica em biologia sintética. Os demais detentores de patentes são verificados na figura 2.

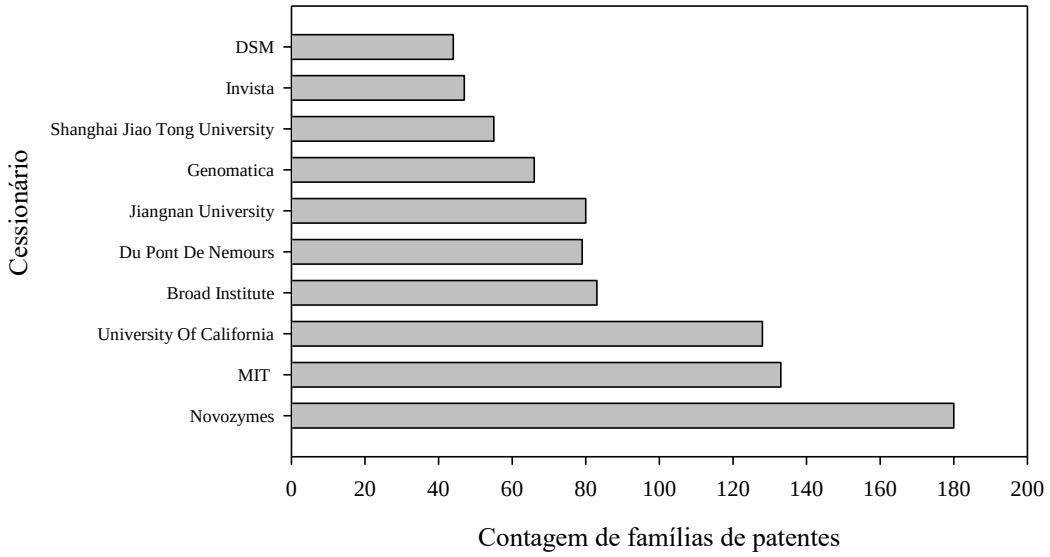

FIGURA 5. Cessionário em etanol com abordagem de biologia sintética. Fonte Orbit, 2019.

A figura 6 apresenta os principais códigos segundo a Classificação Internacional de Patentes (IPC) para cessionários, ou detentores do direito das patentes. Diferente dos demais cessionário, a Novozimes é a única em apresentar uma concentração relevante de famílias de patentes em um único código, o C12N-009/42, descrito com Hidrolases em ligações beta-1, 4-glicosídicas, p. ex. celulase. Já para o MIT, o maior número de depósitos de patentes está no código C12N-015/10, descrito como processos para o isolamento, preparação ou purificação do DNA ou RNA; e preparação de polinucleotídeos não-estruturais a partir de micro-organismos ou de enzimas. A universidade da California apresenta um maior número de depósitos no código C12N-001/21, descrito como bactérias modificadas pela introdução de material genético exógeno, e C12N015/82, descrito como engenharia genética em células vegetais.

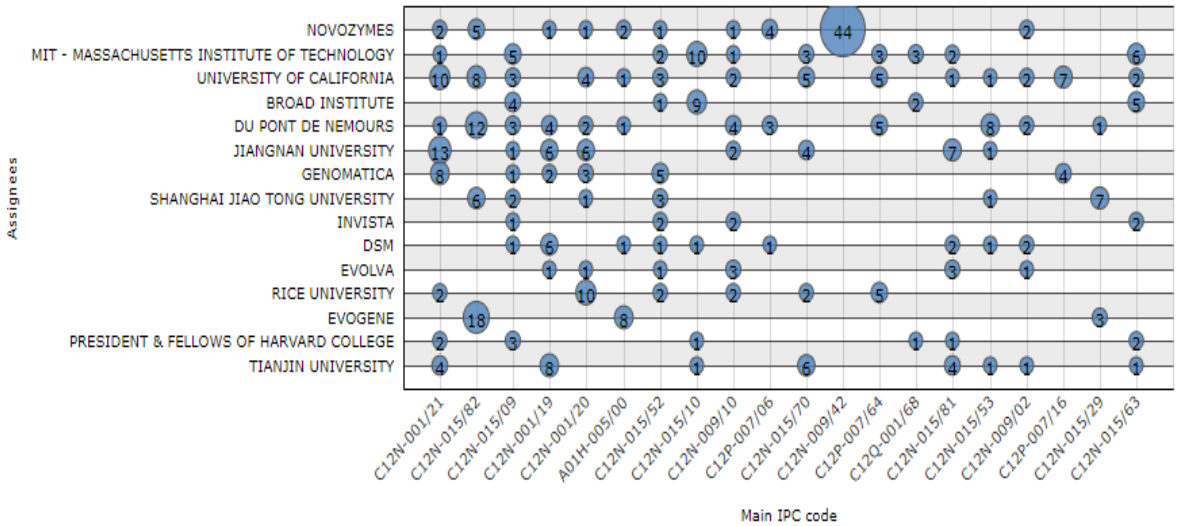

FIGURA 7. Principais códigos segundo a Classificação Internacional de Patentes (IPC) para cessionários em etanol com abordagem de biologia sintética. Fonte Orbit, 2019.

5. DISCUSSÃO E PERSPECTIVAS

O crescimento na busca por patentes em etanol utilizando abordagens de biologia sintética demonstra o potencial dessa nova forma de produção de biocombustíveis avançados. Os EUA e a China são os países líderes na busca por depósitos nesse campo tecnológico. A posição de destaque dos USA e da China estão diretamente relacionadas aos investimentos governamentais em biologia sintética (BUESO; MARK, 2017). Além disso, a posição de destaque dos USA é justificado por ser atualmente o maior produtor de etanol, com produção de aproximadamente 56 bilhões de litros em 2015 (AZHAR, et al. 2017). No entanto, não podemos esquecer da relevância Brasileira. O Brasil é o segundo maior produtor de etanol de cana-de-açúcar e segundo maior produtor de resíduos agroindustriais (ULLAH et al. 215), fonte riquíssima para a produção de etanol de segunda geração (FERREIRA-LEITAO et al 2010;

GIROTTO et al. 2015). Somado a isso, apresenta elevado potencial para produção de biomassa lignocelulósica, a um custo reduzido. Podendo no futuro ser o maior produtor desse biocombustível.

Os cessionários mais ativos no patenteamento em etanol relacionados a abordagens de biologia sintética foram identificados. Observa-se a predominância de universidades, e também de algumas empresas relativamente novas e específicas da área da biologia sintética, sendo a empresa Novozime, o MIT e a Universidade da Califórnia os cessionários mais ativos.

O foco principal das patentes verificadas está na modificação de bactérias para introdução de material genético exógeno (C12N-001/21), engenharia genética em células vegetais (C12N-015/82), mutação ou engenharia genética por tecnologia de DNA recombinante (C12N-015/09), e na modificação de leveduras por meio de introdução de material genético exógeno (C12N-001/19).

A diversidade de compostos e moléculas produzidas usando fábricas vivas sintéticas em biorrefinarias é enorme, podendo revolucionar o modo de produção, entrando em uma nova era da bioeconomia. Entretanto, desafios devem ser superados na produção de etanol utilizando biomassa celulósica, principalmente no desenvolvimento de sistemas celulares capazes de utilizar diferentes fontes de carbono (PEI et al. 2017). Estima-se que as tecnologias para a produção de etanol celulósico estejam maduras nos próximos anos (DARVISHI et al., 2018).

6. CONCLUSÃO

O trabalho apresentou uma análise prospectiva relacionada ao desenvolvimento tecnológico em etanol com abordagem de biologia sintética a nível mundial, mediante a busca de patentes. Constatou-se que não há uma concentração em termos de países, ou de um único cessionários ou grupo de cessionários, mas sim um desenvolvimento tecnológico diversificado mundialmente. Pautado na modificação de bactérias e leveduras para introdução de material genético exógeno, engenharia genética em células vegetais e engenharia genética por tecnologia de DNA recombinante.

Os resultados encontrados fornecem aos pesquisadores uma melhor compreensão do desenvolvimento tecnológico em etanol sintético, ajudando no desenvolvimento de novas pesquisas e projetos no campo da bioenergia. Fornecem uma perspectiva bioeconômica útil com informações relevantes a pesquisadores, gestores e organizações governamentais na tomada de decisão sobre investimentos nesse campo tecnológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATSUMI, S. et al. Metabolic engineering of Escherichia coli for 1-butanol production. **Metabolic engineering**, v. 10, n. 6, p. 305-311, 2008.

ATSUMI, S.; HANAI, T.; LIAO, J. C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. **Nature**, v. 451, n. 7174, p. 86, 2008.

ATSUMI, S.; HIGASHIDE, W.; LIAO, J. C. Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde. **Nature biotechnology**, v. 27, n. 12, p. 1177, 2009.

ATSUMI, S.; HIGASHIDE, W.; LIAO, J. C. Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde. **Nature biotechnology**, v. 27, n. 12, p. 1177, 2009.

ATSUMI, S.; LIAO, J. C. Metabolic engineering for advanced biofuels production from Escherichia coli. **Current opinion in biotechnology**, v. 19, n. 5, p. 414-419, 2008.

AXONAL, Consultoria Tecnológica Ltda. A empresa Questel. Orbit, Inc. 2015. Disponivel em: < http://www.ime.unicamp.br/>. Acesso em fev. 2019.

AZHAR, S. H M. et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 10, p. 52-61, 2017.

BALAT, M. Potential alternatives to edible oils for biodiesel production–A review of current work. **Energy conversion and management**, v. 52, n. 2, p. 1479-1492, 2011.

BARAK, Y. et al. Analysis of novel soluble chromate and uranyl reductases and generation of an improved enzyme by directed evolution. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 72, n. 11, p. 7074-7082, 2006.

BENNER, S. A. Synthetic biology: act natural. **Nature**, v. 421, n. 6919, p. 118, 2003.

BENNER, S. A.; SISMOUR, A. Michael. Synthetic biology. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, n. 7, p. 533, 2005.

BERLA, B. M. et al. Synthetic biology of cyanobacteria: unique challenges and opportunities. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 246, 2013.

BILAL, M. et al. Engineering ligninolytic consortium for bioconversion of lignocelluloses to ethanol and chemicals. **Protein and peptide letters**, v. 25, n. 2, p. 108-119, 2018.

BOTHAST, R. J.; SCHLICHER, M. A. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 67, n. 1, p. 19-25, 2005.

BUESO, Y. F., M T. "Synthetic biology in the driving seat of the bioeconomy." **Trends in biotechnology,** 35.5 (2017): 373-378.

CARLSON, K. M. et al. Committed carbon emissions, deforestation, and community land conversion from oil palm plantation expansion in West Kalimantan, Indonesia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 19, p. 7559-7564, 2012.

CARLSON, R. Estimating the biotech sector's contribution to the US economy. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 3, p. 247, 2016.

CARRIQUIRY, M. A.; DU, X.; TIMILSINA, G. R. Second generation biofuels: Economics and policies. **Energy Policy**, v. 39, n. 7, p. 4222-4234, 2011.

CASES, I.; DE LORENZO, V. Genetically modified organisms for the environment: stories of success and failure and what we have learned from them. **International microbiology**, v. 8, n. 3, p. 213-222, 2005.

CHERUBINI, F. The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy conversion and management**, v. 51, n. 7, p. 1412-1421, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CHOU, C. et al. FMM: a web server for metabolic pathway reconstruction and comparative analysis. **Nucleic acids research**, v. 37, n. suppl_2, p. W129-W134, 2009.

CHOUDHARY, A. K. et al. The needs and benefits of Text Mining applications on Post-Project Reviews. **Computers in Industry**, v. 60, n. 9, p. 728-740, 2009.

CLOMBURG, J. M.; GONZALEZ, R. Biofuel production in Escherichia coli: the role of metabolic engineering and synthetic biology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 86, n. 2, p. 419-434, 2010.

CREMONEZ, P. A. et al. Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 415-428, 2015.

DARVISHI F, A. M, MARELLA, B. I. Advances in synthetic biology of oleaginous yeast Yarrowia lipolytica for producing non-native chemicals. **Applied microbiology and biotechnology**. 2018;102:5925-38.

DELLOMONACO, C. et al. Engineered reversal of the β-oxidation cycle for the synthesis of fuels and chemicals. **Nature**, v. 476, n. 7360, p. 355, 2011.

DELLOMONACO, et al. The path to next generation biofuels: successes and challenges in the era of synthetic biology. **Microbial cell factories**, v. 9, n. 1, p. 3, 2010.

DEMIRBAS, A. Competitive liquid biofuels from biomass. **Applied Energy**, v. 88, n. 1, p. 17-28, 2011.

DINIZ, R. H. S. et al. Transcriptome analysis of the thermotolerant yeast Kluyveromyces marxianus CCT 7735 under ethanol stress. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 101, n. 18, p. 6969-6980, 2017.

DUNLOP, M. J. Engineering microbes for tolerance to next-generation biofuels. **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 32, 2011.

DUTTA, KASTURI; DAVEREY, ACHLESH; LIN, JIH-GAW. Evolution retrospective for alternative fuels: First to fourth generation. **Renewable energy**, v. 69, p. 114-122, 2014.

ENDY, D. Foundations for engineering biology. **Nature**, v. 438, n. 7067, p. 449, 2005.

ENQUIST-NEWMAN, et al. Efficient ethanol production from brown macroalgae sugars by a synthetic yeast platform. **Nature**, v. 505, n. 7482, p. 239, 2014.

FANTINEL, A. L. et al. Mapeamento tecnológico em biodiesel: pedidos de patente depositados no mundo e Brasil. **Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 2, p. 177, 2017 b.

FANTINEL, A. L. et al. Mapeamento tecnológico na produção de biodiesel com enfoque em documentos de patentes depositados no mundo. **Revista Espacios**. vol. 36 (Nº 17) Año 2015 a.

FARGIONE, J. et al. P. Land clearing and the biofuel carbon debt. **Science**, 319(5867), 1235-1238, 2008.

FARIAS SILVA, C. E, et al. Biorefinery as a Promising Approach to Promote Ethanol Industry From Microalgae and Cyanobacteria. In: Bioethanol Production from Food Crops. **Academic Press**, 2019. p. 343-359.

FERREIRA-LEITAO, V. et al. Resíduos de biomassa no Brasil: disponibilidade e usos potenciais. **Valorização de Resíduos e Biomassa**, v. 1, n. 1, p. 65-76, 2010.

GEORGIANNA, D. R.; MAYFIELD, S. P. Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels. **Nature**, v. 488, n. 7411, p. 329, 2012.

GIROTTO, F.; ALIBARDI, L.; COSSU, R. Geração de resíduos alimentares e usos industriais: uma revisão. **Gerenciamento de Resíduos**, v. 45, p. 32-41, 2015.

GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269-274, 2009.

GURGEL, A.; REILLY, J. M.; PALTSEV, S. Potential land use implications of a global biofuels industry. **Journal of Agricultural & Food Industrial Organization**, v. 5, n. 2, 2007.

HARVEY, M; PILGRIM, S. The new competition for land: Food, energy, and climate change. **Food policy**, v. 36, p. S40-S51, 2011.

HAVLÍK, P. et al. Global land-use implications of first and second-generation biofuel targets. **Energy policy**, v. 39, n. 10, p. 5690-5702, 2011.

HEAP, B. The current status of biofuels in the European Union, their environmental impacts and future prospects. 2012.

INPI, Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Classificação de patentes. 2015. Disponível em:< http:// http://www.inpi.gov.br/menu-servicos/patente/classificacao-de-patentes> Acesso em fev. 2019.

JIANG, H. et al. Methanotrophs: multifunctional bacteria with promising applications in environmental bioengineering. **Biochemical Engineering Journal**, v. 49, n. 3, p. 277-288, 2010.

JOJIMA, T., et al. Metabolic engineering for improved production of ethanol by Corynebacterium glutamicum. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1165-1172, 2015.

JULLESSON, D. et al. Impact of synthetic biology and metabolic engineering on industrial production of fine chemicals. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 7, p. 1395-1402, 2015.

KHETKORN, W. et al. Microalgal hydrogen production–A review. **Bioresource technology**, v. 243, p. 1194-1206, 2017.

KOIZUMI, T. Biofuels and food security. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 829-841, 2015.

KOIZUMI, T. **Biofuels and food security: Biofuel impact on food security in Brazil, Asia and major producing countries**. Springer, 2014.

KOPF, M. et al. Comparative analysis of the primary transcriptome of Synechocystis sp. PCC 6803. **DNA research**, v. 21, n. 5, p. 527-539, 2014.

KOPF, M.; HESS, W. R. Regulatory RNAs in photosynthetic cyanobacteria. **FEMS microbiology reviews**, v. 39, n. 3, p. 301-315, 2015.

LAMBERT, N. Internet patent information in the 21st century: A comparison of Delphion, Micropatent, and QPAT. In: **Proceedings of the 2004 International Chemical Information Conference**. 2004.

LEE S. K. et al. Metabolic engineering of microorganisms for biofuels production: from bugs to synthetic biology to fuels. **Current opinion in biotechnology**, v. 19, n. 6, p. 556-563, 2008.

LEE, J. W. et al. Systems metabolic engineering of microorganisms for natural and non-natural chemicals. **Nature chemical biology**, v. 8, n. 6, p. 536, 2012.

LEE, Ok K. et al. Metabolic engineering of methanotrophs and its application to production of chemicals and biofuels from methane. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 10, n. 6, p. 848-863, 2016.

LIAO, J. C. et al. Fuelling the future: microbial engineering for the production of sustainable biofuels. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 288, 2016.

LIU, L.; REDDEN, H.; ALPER, H. S. Frontiers of yeast metabolic engineering: diversifying beyond ethanol and Saccharomyces. **Current opinion in biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 1023-1030, 2013.

LÜ, J.; SHEAHAN, C.; FU, P. Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. **Energy & Environmental Science**, v. 4, n. 7, p. 2451-2466, 2011.

MACHADO, I. MP; ATSUMI, S. Cyanobacterial biofuel production. **Journal of biotechnology**, v. 162, n. 1, p. 50-56, 2012.

MARU, B. T. et al. Dark fermentative hydrogen and ethanol production from biodiesel waste glycerol using a co-culture of Escherichia coli and Enterobacter sp. **Fuel**, v. 186, p. 375-384, 2016.

MORENO, A. D. et al. Production of ethanol from lignocellulosic biomass. In: **Production of Platform Chemicals from Sustainable Resources**. Springer, Singapore, 2017. p. 375-410.

MOSNIER, A. et al. Alternative US biofuel mandates and global GHG emissions: The role of land use change, crop management and yield growth. **Energy Policy**, v. 57, p. 602-614, 2013.

MUKHERJI, S; VAN OUDENAARDEN, A. Synthetic biology: understanding biological design from synthetic circuits. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 12, p. 859, 2009.

NAIK, S. N卌 et al. Production of first and second-generation biofuels: a comprehensive review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 14, n. 2, p. 578-597, 2010.

NARIN F (1994) Patent bibliometrics. **Scientometrics** 30(1):147–155.

NGAMSIRISOMSAKUL, M. et al. Enhanced bio-ethanol production from Chlorella sp. biomass by hydrothermal pretreatment and enzymatic hydrolysis. **Renewable Energy**, 2019.

NIELSEN, J.; KEASLING, J. D. Synergies between synthetic biology and metabolic engineering. **Nature biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 693, 2011.

PEI GS, S. T, CHEN S, CHEN L, Z. WW. Systematic and functional identification of small non-coding RNAs associated with exogenous biofuel stress in cyanobacterium Synechocystis sp PCC 6803. **Biotechnol Biofuels**. 2017;10:17.

PERALTA-YAHYA, P P. et al. Microbial engineering for the production of advanced biofuels. **Nature**, v. 488, n. 7411, p. 320, 2012.

PÉREZ-PIMIENTA, J. A., et al. Sequential enzymatic saccharification and fermentation of ionic liquid and organosolv pretreated agave bagasse for ethanol production. **Bioresource technology**, v. 225, p. 191-198, 2017.

PIMENTEL, D.; PATZEK, T. W. Ethanol production using corn, switchgrass, and wood; biodiesel production using soybean and sunflower. **Natural resources research**, v. 14, n. 1, p. 65-76, 2005.

RAHMAN, Z. et al. Escherichia coli as a fatty acid and biodiesel factory: current challenges and future directions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 12, p. 12007-12018, 2016.

RUDE, M. A.; SCHIRMER, A.. New microbial fuels: a biotech perspective. **Current opinion in microbiology**, v. 12, n. 3, p. 274-281, 2009.

RULLI, M. C. et al. The water-land-food nexus of first-generation biofuels. **Scientific reports**, v. 6, p. 22521, 2016.

SARSEKEYEVA, F. et al. Cyanofuels: biofuels from cyanobacteria. Reality and perspectives. **Photosynthesis research**, v. 125, n. 1-2, p. 329-340, 2015.

SINGH, S.; KATE, B. N.; BANERJEE, U. C. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. **Critical reviews in biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 73-95, 2005.

SOMERVILLE, C. et al. Feedstocks for lignocellulosic biofuels. **Science**, v. 329, n. 5993, p. 790-792, 2010.

STEPHANOPOULOS, G.. Synthetic biology and metabolic engineering. **ACS synthetic biology**, v. 1, n. 11, p. 514-525, 2012.

STEVENS, C.; VERHÉ, R. (Ed.). **Renewable bioresources: scope and modification for non-food applications**. John Wiley & Sons, 2004.

STRONG, P. J.; XIE, S.; CLARKE, William P. Methane as a resource: can the methanotrophs add value?. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 7, p. 4001-4018, 2015.

SUALI, E.; SARBATLY, R. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 6, p. 4316-4342, 2012.

TO, H.; GRAFTON, R. Q. Oil prices, biofuels production and food security: past trends and future challenges. **Food Security**, v. 7, n. 2, p. 323-336, 2015.

TOMEI, J.; HELLIWELL, R. Food versus fuel? Going beyond biofuels. **Land Use Policy**, v. 56, p. 320-326, 2016.

TSAI, S-L; GOYAL, G.; CHEN, Wilfred. Surface display of a functional minicellulosome by intracellular complementation using a synthetic yeast consortium and its application to cellulose hydrolysis and ethanol production. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 76, n. 22, p. 7514-7520, 2010.

TYAGI, S. et al. Production of Bioethanol from Sugarcane Bagasse: Current Approaches and Perspectives. In: **Applied Microbiology and Bioengineering. Academic Press,** 2019. p. 21-42.

ULLAH, K. et al. Assessing the lignocellulosic biomass resources potential in developing countries: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 51, p. 682-698, 2015.**

VAN DOREN, D; KOENIGSTEIN, S; REISS, T. The development of synthetic biology: a patent analysis. **Systems and synthetic biology**, v. 7, n. 4, p. 209-220, 2013.

VENTER J.C. Synthetic Genomics seeks new bio-energy systems. **Industrial Bioprocessing**, 2005

WALTER, M. et al. Field-scale bioremediation of pentachlorophenol by Trametes versicolor. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 56, n. 1, p. 51-57, 2005.

XIA, A. O. et al. Production of hydrogen, ethanol and volatile fatty acids through co-fermentation of macro-and micro-algae. **Bioresource technology**, v. 205, p. 118-125, 2016.

ZABANIOTOU, A.; IOANNIDOU, O.; SKOULOU, V. Rapeseed residues utilization for energy and 2nd generation biofuels. **Fuel**, v. 87, n. 8-9, p. 1492-1502, 2008.