

Proteínas com Sabor Doce como Substituto de Açúcar na Indústria Alimentar

Sweet tasting Proteins as a Sugar Substitute in the Food Industry

Luís Miguel Abilheira da Costa

ORIENTADO POR: DR. DIOGO CERQUEIRA QUEIRÓS

COORIENTADO POR: PROF. DOUTOR DUARTE PAULO MARTINS TORRES

REVISÃO TEMÁTICA

I.º CICLO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO | UNIDADE CURRICULAR ESTÁGIO

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DA UNIVERSIDADE DO PORTO

TC

PORTO, 2025



Resumo

O consumo excessivo de açúcares livres está associado ao aumento da obesidade a nível global. À luz deste problema, o interesse por edulcorantes não calóricos como alternativas ao açúcar, tem vindo a crescer, contudo, acoplado a esse crescimento, surgem também preocupações com a segurança e eficácia desses compostos, o que motiva a procura por substitutos naturais que suprimam essas necessidades. É neste contexto que as proteínas com sabor doce emergem como alternativas promissoras, apresentando uma combinação de elevado poder adoçante com origem natural e aparente segurança. Esta revisão explorou a origem, propriedades físico-químicas, segurança, aplicações tecnológicas e limitações das diversas proteínas com sabor doce conhecidas, (taumatina, brazzeína, monelina, curculina/neoculina, miraculina, mabinlina, pentadina, lisozima da clara de ovo e o adoçante de trufa de mel). Os resultados revelam que, apesar do reconhecimento da segurança de algumas destas proteínas por órgãos regulatórios, obstáculos como a instabilidade térmica, efeitos sensoriais indesejáveis, escassez das origens e entraves regulatórios ainda limitam a sua utilização generalizada na indústria alimentar. No entanto, os avanços em biotecnologia, como sistemas de produção recombinantes e engenharia proteica, e maior investimento na investigação destas proteínas, têm demonstrado capacidade para superar essas limitações. Em suma, embora as proteínas com sabor doce se apresentem como uma alternativa viável e segura à utilização do açúcar na indústria alimentar, o seu sucesso está dependente não só de fatores como desenvolvimento tecnológico, validação científica rigorosa e regulamentação, como também, de um processo de comunicação transparente com o consumidor final.

Palavras-Chave

Edulcorantes Naturais; Proteínas com Sabor Doce; Indústria Alimentar; Segurança Alimentar; Açúcar

Abstract

The excessive consumption of free sugars is associated with the global increase in obesity. Considering this issue, interest in non-caloric sweeteners as sugar alternatives has been growing. However, alongside this growth, concerns have also arisen about the safety and efficacy of these compounds, which has driven the search for natural substitutes that can meet these needs. In this context, sweet-tasting proteins have appeared as promising alternatives, offering a combination of high sweetening power, natural origin, and apparent safety. This review explored the origin, physicochemical properties, safety, technological applications, and limitations of various known sweet-tasting proteins (thaumatin, brazzein, monellin, curculin/neoculin, miraculin, mabinlin, pentadin, egg white lysozyme, and honey truffle sweetener). The findings reveal that, despite the safety of some of these proteins being recognized by regulatory bodies, obstacles such as thermal instability, undesirable sensory effects, scarcity of sources, and regulatory barriers still hinder their widespread adoption in the food industry. Nevertheless, advances in biotechnology, such as recombinant production systems and protein engineering, as well as increased investment in research on these proteins, have shown potential to overcome these limitations. In conclusion, although sweet-tasting proteins are a viable and safe alternative to sugar use in the food industry, their success depends not only on technological development, rigorous scientific validation, and regulation but also on a transparent communication process with the end consumer.

Keywords

Natural Sweeteners; Sweet Tasting Proteins; Food Industry; Food Security; Sugar

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

AA - Aminoácidos

AdAl - Aditivos alimentares

AL - Açúcares Livres

ATM - Adoçante de Trufa de Mel

BRZN - Brazzeína

CE - Comissão Europeia

CRLN - Curculina

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

FDA - Food and Drug Administration

GRAS - Geralmente Reconhecidos Como Seguros

IA - Indústria Alimentar

LCO - Lisozima de Clara de Ovo

MBLN - Mabinlina

MNLN - Monelina

MRCL - Miraculina

NCLN - Neoculina

OMS - Organização Mundial de Saúde

PSD - Proteínas com Sabor Doce

PNTD - Pentadina

TMTN - Taumatina

Sumário

Resumo	i
Palavras-Chave	ii
Abstract	iii
Keywords.....	iii
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos	iv
Sumário.....	v
Introdução	1
Objetivos.....	3
Metodologia.....	3
Proteínas com sabor doce	4
Mecanismo de perceção da doçura.....	4
Taumatina	5
Brazzeína.....	6
Monelina.....	8
Curculina/Neoculina.....	9
Miraculina	10
Mabinlina.....	11
Pentadina	12
Adoçante de Trufa de Mel	13
Lisozima de Clara de Ovo.....	13
Análise Crítica	14
Conclusões	15
Referências	16

Anexos e apêndices	21
Índice de anexos/apêndices	21

Introdução

O aumento do consumo de açúcares livres (AL) é um dos principais fatores que contribuem para o escalar dos casos de excesso de peso e de obesidade⁽¹⁾. Sendo estes, por sua vez, uns dos principais fatores de risco para uma variada gama de doenças não transmissíveis, como diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crónicas e problemas digestivos⁽²⁾. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2022, 1 a cada 8 pessoas vive com obesidade, tendo a prevalência de obesidade em adultos duplicado desde 1990. No mesmo período, também em crianças com idade superior a 5 anos e na adolescência, a prevalência de obesidade subiu de 8% para 20%⁽²⁾. Este problema, que outrora se atribuía maioritariamente a países desenvolvidos, tem adquirido proporções globais, com o vertiginoso crescimento de casos em países em desenvolvimento e países subdesenvolvidos^(2, 3). O contributo dos AL para a formação de um ambiente obesogénico provém do seu elevado contributo energético sem que forneça outros nutrientes, o que contribui para um aumento do risco de um ganho de peso não saudável^(3, 4). Outro problema causado pelo elevado consumo deste grupo é o aparecimento de cáries dentárias⁽⁴⁾. Com base nestes dados, a Organização Mundial da Saúde (OMS) emitiu, em 2015, recomendações fortes no sentido de reduzir o consumo de açúcares livres ao longo de todo o curso de vida, recomendando que a ingestão destes não ultrapasse os 10% do valor energético total diário⁽⁴⁾. Como resposta a estas recomendações ocorreu um aumento exponencial do interesse nos edulcorantes⁽¹⁾, e, por sua vez, a indústria alimentar (IA) investiu significativamente no desenvolvimento de substitutos do açúcar que fossem seguros, estáveis e organoleticamente aceitáveis. No entanto, mesmo que

adoçantes artificiais (como o aspartame e a sucralose) e naturais (como a stevia) se tenham tornado amplamente disponíveis, muitos apresentam desafios à aceitação, nomeadamente devido à presença de um gosto residual desagradável, preocupações quanto à segurança a longo prazo e limitações em aplicações culinárias e industriais⁽⁵⁻⁷⁾. Devido às preocupações suscitadas, nomeadamente a incerteza da efetividade dos edulcorantes no controlo de peso a longo prazo, ou se existe alguma ligação entre os edulcorantes e outros efeitos nefastos na saúde, a OMS, requisitou a elaboração de uma revisão sistemática e meta-análise com o objetivo de reunir informação que auxiliasse na formulação de linhas orientadoras para o consumo de edulcorantes. As evidências reportadas resultaram na recomendação temporária de evitar o uso deste tipo de aditivos alimentares (AdAl)^(1, 8). Mesmo antes deste novo posicionamento da OMS, ocorreu um crescimento na procura por novos edulcorantes que respondessem não só aos requisitos sensoriais de um bom substituto de açúcar, como também, garantissem a segurança para o consumidor. Alguns exemplos incluem extratos naturais de plantas, açúcares raros de ocorrência natural, técnicas de revestimento de transportadores minerais com açúcar, cristais de açúcar com estrutura modificada, e proteínas com sabor doce (PSD)⁽⁹⁾. Estas proteínas têm despertado especial atenção devido à capacidade de serem expressas em sistemas de expressão heterólogos⁽¹⁰⁾, e a capacidade de utilizar engenharia genética de forma a alterar as características das mesmas⁽¹¹⁾, bem como associações com efeitos benéficos, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e efeitos protetores contra alterações metabólicas induzidas por dietas hipercalóricas⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Objetivos

Os objetivos do presente trabalho são explorar a origem, propriedades físicas e químicas, segurança, aplicações, limitações tecnológicas e perspectivas futuras das PSD, de modo a avaliar se estas apresentam as características necessárias para serem viabilizadas e prosperarem como substitutos do açúcar na indústria alimentar.

Metodologia

Para a revisão da literatura recorreu-se às bases de dados Pubmed, Web of Science e Scopus, utilizando os seguintes termos de pesquisa: ("sweet protein") OR ("sweet tasting protein") OR ("sweet proteins") OR ("sweet tasting proteins") (Pubmed e Scopus) e "sweet protein" (Topic) or "sweet proteins" (Topic) or "sweet tasting protein" (Topic) or "sweet tasting proteins" (Topic) (Web of Science).

A seleção dos artigos teve em consideração o ano de publicação, tendo sido incluídos estudos publicados entre 2015 e 2025. A última pesquisa foi realizada a 03/06/2025. Inicialmente, foram identificados 634 artigos, dos quais 322 permaneceram após a remoção de duplicados. Seguiu-se uma triagem com base nos títulos e resumos, resultando na seleção de 144 artigos. Destes, 20 foram excluídos por não ser possível aceder ao texto integral. Dos 124 artigos restantes, 56 foram incluídos na revisão. Adicionalmente, foram incorporados 6 artigos provenientes de pesquisa manual, totalizando 62 artigos selecionados, dos quais aproximadamente 70% foram publicados a partir de 2020.

Artigos em outra língua que não o inglês foram traduzidos com recuso ao ChatGPT e ao Deepseek. A bibliografia dos artigos também foi alvo de revisão.

O processo de seleção de artigos também pode ser consultado no (Apêndice A - Diagrama de Fluxo Relativo à Metodologia). A par dos artigos, foram consultados os sites da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), OMS, Food and Drug Administration (FDA) e da Comissão Europeia (CE).

Em anexo encontra-se o parecer do coorientador de estágio (Anexo 1).

Proteínas com sabor doce

As PSD são portadoras de uma capacidade adoçante e de outras características, o que as faz ser consideradas como um potencial substituto, tanto do açúcar, como de edulcorantes artificiais, de forma a contribuir com o combate à diabetes e à obesidade, e mitigar o impacto do elevado consumo de AL⁽¹⁵⁾. Atualmente, existem 9 proteínas que, ou possuem um sabor doce, ou propriedades de alteração da percepção do sabor, ou ambos, sendo que 7 provêm de uma fonte natural e vegetal, entre elas a Taumatina (TMTN), Brazzeína (BRZN), Monelina (MNLN), Curculina (CRLN)/Neoculina (NCLN), Miraculina (MRCL), Mabinlina (MBLN), Pentadina (PNTD) e 1 com origem num fungo, o Adoçante de Trufa de Mel (ATM)⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. A maior parte destas proteínas podem ser encontradas e extraídas de plantas que crescem em florestas tropicais⁽¹⁹⁾, sendo a ATM a única a contrariar esta tendência⁽¹⁷⁾. Dentro destas, as que melhor se encontram estudadas são a TMTN, a MNLN e a BRZN⁽¹⁵⁾. Além das mencionadas, existe também uma PSD de origem animal, a lisozima da clara de ovo (LCO)^(16, 20).

Mecanismo de percepção da doçura

As PSD produzem a sensação desse tipo de sabor ao interagirem com o recetor do sabor doce, um heterodímero formado pelas subunidades T1R2 e T1R3, localizadas na membrana das células gustativas. A estrutura tridimensional completa deste

recetor ainda não foi completamente elucidada, no entanto, o modelo mais aceite à data de escrita é o modelo da cunha (“wedge model”), no qual a superfície da PSD se encaixa de forma complementar à superfície do recetor. Quando a PSD se liga ao recetor, ativa uma cascata de sinais intracelulares que têm como consequência a perceção do sabor doce^(15, 21). Para além deste mecanismo, um estudo de modelação molecular demonstrou que as interações eletrostáticas entre o recetor e a PSD são fundamentais para a intensidade do sabor doce⁽²²⁾.

Taumatina

A TMTN é uma PSD de origem natural, extraída dos arilos do fruto da planta *Thaumatococcus daniellii*, nativa das florestas tropicais da África Ocidental. Esta proteína, apesar de possuir um retrogosto característico, apresenta uma doçura cerca de 1600 a 3000 vezes superior à da sacarose (por unidade de massa)⁽²³⁻²⁵⁾ e ocorre naturalmente em várias isoformas, sendo as principais a TMTN I e II, que possuem 207 aminoácidos (AA) e um ponto isoelétrico elevado^(23, 26). Ambas as isoformas compartilham uma estrutura rica em pontes dissulfeto, o que confere estabilidade térmica e resistência a condições ácidas^(23, 27, 28). Em pH ácido, a TMTN é especialmente estável, sobrevivendo a tratamentos térmicos como a pasteurização⁽²⁷⁾. O consumo desta proteína é considerado seguro por órgãos reguladores como a EFSA, que concluiu em 2021 uma reavaliação da TMTN enquanto AdAI^(29, 30), e a FDA⁽³¹⁾, que não atribuíram um limite de ingestão diária adequado, dado o seu perfil toxicológico e alta digestibilidade^(24, 32). Atualmente, a TMTN é aplicada em chicletes, laticínios, bebidas, rações para animais, tanto como adoçante, como para mascarar sabores indesejados^(32, 33). Uma das limitações do uso da TMTN prende-se com a inviabilidade económica da sua

extração diretamente da planta, uma vez que, esta é limitada por fatores como maturação do fruto, variações sazonais e dificuldade de cultivo em larga escala^(32, 33), no entanto, para contornar estas limitações, têm vindo a ser explorados diversos sistemas de produção com recurso à tecnologia do ADN recombinante. De entre os sistemas de produção estudados, o que demonstra maior potencial é a levedura *Pichia pastoris*, pois permite expressão extracelular, crescimento em alta densidade e processamento pós-tradução adequado, incluindo a correta formação das pontes dissulfeto^(23, 28, 33). Outros sistemas utilizados incluem *E. coli*, *Aspergillus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, e sistemas de expressão transgénica em plantas como tomate, arroz, alface, pepino e morango^(25, 34, 35). Com o avanço da engenharia genética, do controlo de processos fermentativos e da biologia de sistemas, cresce a expectativa de que a TMTN se consolide como um adoçante natural competitivo e sustentável⁽³³⁾. Além disso, o contínuo aprimoramento da proteína, de forma a reduzir seu retrogosto característico, poderá expandir ainda mais seu uso como substituto do açúcar em alimentos⁽²⁵⁾.

Brazzeína

A BRZN, outra PSD de origem natural, foi isolada em 1994 da polpa dos frutos da planta africana *Pentadiplandra brazzeana Baillon*, conhecida localmente como "oublì"^(36, 37). É a menor das PSD conhecidas com apenas 54 AA⁽³⁷⁻³⁹⁾ e a sua doçura é de 500 a 2000 vezes maior que a da sacarose (por unidade de massa). Esta variação ocorre devido à existência de diferentes isoformas da BRZN⁽⁴⁰⁻⁴³⁾. A BRZN apresenta uma estrutura altamente compacta e estável, formada por uma α -hélice curta, três folhas β antiparalelas e quatro pontes dissulfeto intracadeia, esta estrutura confere-lhe resistência térmica e estrutural^(36, 37, 43). As duas formas desta proteína são encontradas na natureza, 80% na forma de pyrE-brazzein, que

contém um resíduo de ácido pirolidônico no terminal N, e é menos doce, e 20% na forma de des-pyrE-brazzein que não possui o resíduo mencionado, e apresenta uma doçura cerca de duas vezes superior à outra forma⁽³⁶⁻³⁸⁾. Esta proteína é altamente solúvel em água e estável entre pH 2,5 e 8, além de resistir a temperaturas até 98 °C por 2 horas, ou 80 °C por 4,5 horas sem perder a doçura, mostrando ser uma proteína com características necessárias para a aplicação na IA^(37, 44, 45). Avanços em bioengenharia resultaram na produção de variantes que apresentam maior doçura, como a “3M-Brazzein”, uma mutação tripla que atingiu 22.500 vezes a doçura da sacarose, sendo cerca de 18 vezes mais doce que a BRZN selvagem^(12, 40, 42), ou a remoção do metionina N-terminal, que contribui para o aumento da doçura da BRZN em versões recombinantes expressas em *E. coli*⁽⁴⁶⁾. Como a extração direta da planta é bastante limitada, quer pela baixa concentração da proteína no fruto, cerca de 0,2%, quer pela própria dificuldade de cultivo da planta⁽³⁶⁾, foram desenvolvidos diversos sistemas de expressão heterólogos, dentre eles bactérias como a *E. coli*, e o *Lactococcus lactis*^(37, 41, 43); leveduras, como a *Pichia pastoris*, e a *Kluyveromyces lactis*^(37, 44, 47); plantas transgênicas, como o milho, arroz, tabaco e a cenoura^(36, 41, 48); e animais transgênicos como murganhos^(36, 42). Dentro dos mencionados, os sistemas de leveduras são os mais promissores, por serem geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) e permitirem uma alta taxa de produção devido à secreção ativa da proteína para o meio extracelular^(12, 47). Além de seu potencial como adoçante, a BRZN apresenta atividades bioativas adicionais, como a ação antioxidante^(13, 43, 49), o efeito anti-inflamatório^(12, 13, 49) e a ação antialérgica^(13, 49). Quanto à segurança, estudos *in vitro* e *in vivo* confirmaram que a BRZN não apresenta

toxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade ou alergenicidade⁽⁴³⁻⁴⁵⁾ e em 2024 foi reconhecida como GRAS pela FDA⁽³¹⁾, enquanto na Europa, a EFSA ainda emitiu a opinião científica que poderá suportar a decisão da CE de aprovar a comercialização e o uso desta proteína^(29, 30, 50). Outra vantagem da BRZN é o seu efeito sinérgico com outros adoçantes, sinergia esta que permite reduzir a presença do sabor residual dos outros compostos⁽⁴³⁾. Empresas como a Sweegen já comercializam uma versão industrial desta proteína^(43, 44).

Monelina

A MNLN é uma PSD natural isolada da planta africana *Dioscoreophyllum cumminsii*, também conhecida como “serendipity berry”^(51, 52). Para a mesma massa, a doçura da MNLN é aproximadamente 3.000 a 4.000 vezes superior à da sacarose^(43, 53). A estrutura da MNLN é composta por duas cadeias polipeptídicas, uma cadeia A com 44-45 resíduos de AA e uma cadeia B com 50, unidas por ligações não covalentes. Devido a estas características, é uma proteína termicamente instável, perdendo a sua doçura quando é exposta a temperaturas acima de 50 °C^(18, 43). De forma a superar esta limitação, existiu um grande investimento em estratégias de engenharia proteica, que resultaram na criação de variantes de cadeia única como a “Monellin Engineered Isoform” e a “DM31”^(43, 51, 53-55). Estas variantes apresentaram uma maior estabilidade térmica, conseguindo manter a sua doçura até quando se encontram expostas a 70 °C ou mais⁽¹⁸⁾, e foram produzidas com sucesso em diferentes organismos hospedeiros, como *E. coli*, leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*), plantas transgênicas (tomate, alface, tabaco) e até mesmo em glândulas mamárias de murganhos transgênicos, com expressão funcional da proteína no leite destes animais^(43, 51, 56). Também a modificação da proteína com recurso a mutagénese sítio-específica tem sido

essencial para o aprimoramento das características da MNLN^(18, 43, 51, 53, 54). Estudos com animais demonstram que a MNLN é segura, não tóxica e não alergénica, sem evidências de mutagenicidade, toxicidade sistémica ou causa de outras reações adversas⁽⁴⁵⁾. O consumo prolongado desta proteína, por parte de animais, não resultou numa alteração significativa da microbiota intestinal, nem resultou no surgimento de microbiota oportunista⁽¹⁴⁾. Apesar da MNLN demonstrar um desempenho funcional promissor, e de recentemente ter obtido o estatuto de GRAS pela FDA⁽³¹⁾, esta proteína ainda não foi alvo de avaliação pela EFSA nem obteve aprovação legal da CE para uso como AdAl^(29, 30, 50).

Curculina/Neoculina

A CRLN e a NCLN são PSD extraídas da planta *Curculigo latifolia*, uma planta nativa da Malásia^(21, 57), sendo as únicas proteínas que apresentam ambas as propriedades de modificar a perceção de sabores ácidos e amargos em sabores doces e de possuírem sabor doce próprio⁽⁵⁸⁾, apresentando uma doçura relativa à sacarose cerca de 550 vezes superior, por unidade de massa^(19, 33, 59). A CRLN é composta por 114 AA^(10, 19), que formam um dímero homólogo composto por duas subunidades básicas,⁽¹¹⁾ já a NCLN, por sua vez, é um dímero heterólogo, composto por uma subunidade básica e uma subunidade ácida⁽¹¹⁾. A produção natural de CRLN é limitada, pois a proteína é pouco abundante nos frutos de origem. Expressão recombinante em *Escherichia coli* já foi conseguida, mas com rendimentos ainda baixos, inviáveis para produção industrial⁽⁶⁰⁾. CRLN e NCLN são estáveis em pH entre 3-11, porém sensíveis ao calor, já que a CRLN perde a sua atividade após ser exposta a temperaturas acima de 50-55 °C^(16, 57, 61). Com o objetivo de superar esta limitação, um estudo recente aplicou engenharia

computacional e mutagênese dirigida de forma a desenvolver um mutante, capaz de suportar temperaturas superiores, sem perda de doçura⁽⁵⁸⁾. Até o momento, não há avaliações toxicológicas ou de alergenicidade conclusivas^(57, 60). Tanto a CRLN como a NCLN não são aprovadas como AdAL na União Europeia ou nos Estados Unidos^(29-31, 50), no entanto, são reconhecidas como um AdAL seguro no Japão⁽¹⁰⁾.

Miraculina

A MRCL é uma glicoproteína natural⁽⁶²⁾ com 191 AA^(57, 60), presente nos frutos vermelhos do *Synsepalum dulcificum*, um arbusto tropical da família Sapotaceae, nativo da África Ocidental⁽⁶³⁾. Conhecida popularmente como “miracle fruit”, é dessa baga que se extrai a MRCL. Apesar desta proteína não apresentar um sabor doce por si só, esta possui a capacidade de transformar a percepção de sabores ácidos e amargos em doces^(11, 61), esta atividade modificadora do paladar persiste de 1 a 2 horas^(61, 64, 65). No entanto, a MRCL é uma proteína termossensível, que é rapidamente inativada pelo calor⁽⁶⁵⁾. Quanto à sua segurança, análises *in vitro* indicam que a MRCL é altamente digestível e avaliações *in silico* demonstraram que a MRCL não representa riscos de alergenicidade ou toxicidade⁽⁶⁶⁾. Graças à sua propriedade modificadora de sabor, a MRCL apresenta potencial terapêutico, um estudo clínico apontou que a ingestão habitual de suplementos contendo MRCL resultou na melhora da aceitação alimentar, aumento da ingestão calórica e melhora do estado nutricional em pacientes oncológicos submetidos à quimioterapia, uma vez que, estes frequentemente desenvolvem disgeusia e as propriedades da MRCL mitigam este problema⁽⁶²⁾.

Devido à baixa produtividade natural da planta, diversas estratégias biotecnológicas têm sido exploradas para a produção recombinante da MRCL. Plantas geneticamente modificadas como alface e tomate têm demonstrado

sucesso na produção de MRCL funcional, com destaque para os tomates transgênicos pela sua estabilidade genética e maior rendimento proteico⁽⁶⁴⁾. Todavia, a etapa de purificação continua a ser um dos principais entraves técnicos, especialmente no caso de matrizes vegetais complexas^(64, 67).

O uso comercial da MRCL enfrenta ainda desafios regulatórios, embora a fruta seca de *S. dulcificum* tenha sido classificada como “novel food” pela CE, após parecer positivo da EFSA onde foi derivado um limite seguro de ingestão de 10 mg/kg/dia e uma dose máxima diária de 0,7g/dia, excluindo gestantes e lactantes⁽⁵⁰⁾, e produtos derivados tenham recebido o status GRAS nos Estados Unidos⁽³¹⁾, a MRCL isolada ainda não foi aprovada como AdAl por essas agências^(29-31, 50).

Mabinlina

A família das mabinlinas é composta por 4 PSD, sendo elas: MBLN I, II, III e IV⁽⁶⁸⁾, estas são extraídas das sementes maduras da *Capparis masaikai* Lévl., uma planta subtropical originária da região de Yunnan, na China⁽⁶⁵⁾. Entre elas a Mabilina II é a mais estudada^(10, 11) e a que apresenta propriedades mais interessantes quando usada como edulcorante⁽⁶⁸⁾. A MBLN II é uma proteína heterodimérica, composta por duas cadeias: a cadeia A, com 33 AA, e a cadeia B, com 72 AA⁽¹¹⁾, e possui um poder adoçante 100 vezes superior quando comparada com a sacarose (por unidade de massa)^(11, 33). A cadeia B é a responsável pela doçura, enquanto a cadeia A é a responsável pelo gosto residual prolongado característico desta proteína^(15, 21). A MBLN II possui vantagens que a tornam única no contexto das PSD, é aquela com maior estabilidade térmica e maior resistência em meio ácido, o que a torna especialmente interessante em formulações onde outras PSD apresentariam degradação funcional, para além de ser hidrossolúvel^(10, 11). O perfil

de doçura da MBLN II também permite mascarar a amargura de alimentos vegetais⁽⁶⁵⁾. No entanto, existem também algumas limitações a uma maior exploração desta proteína, como o pouco poder adoçante, quando comparada a outras PSD, ou a crescente escassez da planta de origem, bem como a extração da MBLN ser complicada e custosa⁽⁶⁸⁾. Uma forma de contornar este problema é o recurso a tecnologia de ADN recombinante, todavia, os modelos de *E. Coli* e de *L. Lactis* desenvolvidos apresentam limitações, como a rápida perda da solubilidade da proteína recombinante e o baixo rendimento de produção, respetivamente⁽⁶⁸⁾. Também a existência de uma sobreposição significativa da estrutura da MBLN e dos alérgenos do grupo PR-14, levanta questões sobre a potencial alergenicidade dessa proteína⁽⁶⁰⁾. Atualmente, nenhuma das 4 isoformas da MBLN está aprovada para o uso como AdAl na Europa, ou nos Estados Unidos^(29-31, 50).

Pentadina

A PNTD é uma proteína com 54 AA⁽³³⁾ que, à semelhança da BRZN é extraída da polpa dos frutos da *Pentadiplandra brazzeana Baillon*, um arbusto trepador nativo das florestas tropicais da África Ocidental^(15, 57), sendo que a PNTD é extraída na fruta seca e a BRZN é extraída na fruta fresca⁽¹⁰⁾. Inicialmente, devido à semelhante estrutura de AA das duas proteínas, foi assumido que a PNTD era um derivado da BRZN induzido por temperatura⁽⁶¹⁾. Esta proteína possui um poder adoçante estimado em cerca de 500 vezes o da sacarose, para a mesma massa e as suas propriedades organoléticas são frequentemente comparadas às da MNLN, embora a intensidade da doçura da PNTD seja inferior^(15, 60), essa mesma sensação de doçura esvanece-se rapidamente⁽³³⁾. A PNTD consegue manter a intensidade da sua doçura mesmo após ser exposta a 100°C por 5 horas, sendo esta uma vantagem em relação a outras PSD^(10, 16). No entanto, ainda não existem avaliações de risco

para a saúde humana decorrentes da utilização de PNTD⁽⁵⁷⁾ e a mesma ainda não possui o aval para ser utilizada na IA Europeia ou dos EUA^(29-31, 50).

Adoçante de Trufa de Mel

O ATM é uma proteína composta por 121 AA, tendo sido recentemente identificada como a principal responsável pelo sabor doce da trufa *M. terfezioides*. O ATM apresenta alta intensidade de doçura, com concentrações entre 10 e 200 µg/mL, equivalendo a soluções de 1 a 10% de sacarose. Os estudos preliminares que avaliaram o seu potencial tóxico e alergénico revelaram que o ATM foi rapidamente digerido em condições simuladas de estômago e intestino. Análises *in silico* e modelos preditivos não identificaram homologia significativa nem classificaram o ATM como alergénico, bem como não foi considerado como potencialmente tóxico⁽¹⁷⁾. O ATM ainda não se encontra disponível para a utilização na indústria alimentar nos Estados Unidos e na Europa^(29-31, 50).

Lisozima de Clara de Ovo

Ao contrário de todas as outras, a lisozima é a única proteína com sabor doce descoberta até à data, cuja origem remete a uma fonte animal, contrastando com todas as outras que possuem ou origem vegetal ou origem num fungo⁽²⁰⁾. De modo a ser usada na forma de adoçante, a lisozima tem de ser submetida a um processo simples de purificação da clara do ovo⁽¹⁶⁾. A LCO é formada por uma única cadeia de 129 AA e possui uma doçura considerada 200 vezes superior à da TMTN e da MNLN⁽¹⁶⁾, essa doçura, no entanto, varia com as diferentes espécies de aves⁽²⁰⁾, e apresenta adstringência e um efeito de gosto residual, quando comparado com outros adoçantes⁽¹⁶⁾.

Existem evidências contraditórias quanto à estabilidade da LCO quando exposta a elevadas temperaturas^(16, 20). Enquanto a LCO se encontra aprovada como AdAl pela CE e pela FDA como um conservante antimicrobiano, a mesma não se encontra aprovada para o uso como edulcorante por nenhuma delas^(29-31, 50).

Análise Crítica

O crescente interesse por alternativas ao açúcar e aos edulcorantes artificiais tem gerado um novo paradigma na indústria alimentar e nas políticas de saúde pública, com o foco nas preocupações relacionadas com o impacto do consumo excessivo de AL na saúde global. Nesse contexto, as PSD surgem como uma resposta inovadora e promissora ao desafio de conciliar a palatabilidade e segurança em produtos alimentares de baixo teor calórico. Esta revisão revelou que, embora algumas PSD, como a TMTN, a BRZN e a MNLN, já tenham sido reconhecidas como seguras por órgãos como a FDA e a EFSA, outras ainda enfrentam desafios consideráveis de produção, como a viabilidade económica e tecnológica, e de regulamentação, como a carência de estudos que comprovem a segurança da utilização de algumas PSD, como AdAl e abordagens cautelosas por parte dos órgãos reguladores no que toca à aprovação do uso destas proteínas como AdAl. Avanços nestas áreas são fundamentais de forma a garantir a viabilidade do uso das diferentes PSD e, para tal, é necessário investir na realização de ensaios clínicos robustos, estudos de biodisponibilidade, ensaios de sistemas de produção recombinante e avaliações sistemáticas de risco. Outro ponto que poderá desacelerar a propagação do uso destas proteínas relaciona-se com os efeitos sensoriais não desejáveis de algumas PSD, como, por exemplo, adstringência (LCO) ou doçura persistente (MBLN). Para corrigir tal problema, deve-se investir na engenharia de proteínas, quer por meio de mutagénesse dirigida, quer por

otimização por modelação molecular, pois esta tem mostrado resultados promissores na mitigação desses efeitos indesejáveis, como demonstrado pelas variantes melhoradas da BRZN e MNLN. Além da função edulcorante, também é importante destacar a presença de propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, bem como a capacidade modeladora da percepção do sabor de algumas PSD, que abre caminho para o desenvolvimento de produtos funcionais, para além da substituição do açúcar como o potencial terapêutico de compostos como a MRCL, que demonstrou resultados positivos quando testada clinicamente em pacientes oncológicos com disgeusia. Contudo, para que as PSD se consolidem como alternativas viáveis ao açúcar, não serão só necessárias as soluções para ultrapassar as atuais barreiras, mencionadas anteriormente, mas também é necessário que todo este processo seja realizado de forma transparente de modo a conquistar a confiança do consumidor final.

Conclusões

As proteínas com sabor doce apresentam-se como alternativas promissoras ao açúcar e aos edulcorantes artificiais, como demonstrado pela combinação do seu elevado poder adoçante e da sua aparente segurança de consumo. No entanto, limitações como a falta de evidência robusta sobre segurança de algumas destas proteínas, desafios tecnológicos de produção e barreiras regulatórias ainda dificultam a sua propagação como adoçantes. É de se esperar que, com o avanço da biotecnologia e com a elaboração de mais estudos sobre as PSD, ocorra uma viabilização mais alargada do uso destas proteínas como um substituto do açúcar na IA.

Referências

1. World Health Organization. Use of non-sugar sweeteners: WHO guideline. Geneva: World Health Organization;; 2023. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240073616>.
2. World Health Organization. Obesity and overweight. 2025. [atualizado em: 07/05/2025]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
3. World Health Organization. Reducing free sugars intake in adults to reduce the risk of noncommunicable diseases. 2023. [atualizado em: 09/08/2023]. Disponível em: <https://www.who.int/tools/elena/interventions/free-sugars-adults-ncds>.
4. World Health Organization. Sugars intake for adults and children: guideline. Geneva: World Health Organization; 2015. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>.
5. A REVIEW: ALTERNATIVES TO SUBSTITUTE FRUCTOSE IN FOOD PRODUCTS FOR PATIENTS WITH DIABETES. Research for Rural Development; 2023. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85185826474&doi=10.22616%2fRRD.29.2023.008&partnerID=40&md5=31777be3a44cf2a203dc754310476f4e>.
6. Bhardwaj V, Singh R, Singh P, Purohit R, Kumar S. Elimination of bitter-off taste of stevioside through structure modification and computational interventions [Article]. Journal of Theoretical Biology. 2020; 486
7. Khoo HE, Chen BJ, Li J, Li X, Cheng SH, Azrina A. Emerging natural and high-phenolic sweet substances: A review [Article]. Int Food Res J. 2023; 30(2):303-23.
8. Magali Rios-Leyvraz, Montez J. Health effects of the use of non-sugar sweeteners: a systematic review and meta-analysis. Geneva: World Health Organization; 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240046429>.
9. Mooradian AD. In search for an alternative to sugar to reduce obesity. Int J Vitam Nutr Res. 2019; 89(3-4):113-17.
10. Sharififar F, Ashrafzadeh A, Khanaman M. A Review of Natural Peptide Sweeteners. International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 2022; 28
11. Shi T, Cao G. Research Progress in Gene Engineering Expression of Sweet Proteins [Article]. Science and Technology of Food Industry. 2023; 44(2):453-59.
12. Kim H, Kang J, Hong S, Jo S, Noh H, Kang BH, et al. 3M-Brazzein as a Natural Sugar Substitute Attenuates Obesity, Metabolic Disorder, and Inflammation [Article]. J Agric Food Chem. 2020; 68(7):2183-92.
13. Chung JH, Kong JN, Choi HE, Kong KH. Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities of the sweet-tasting protein brazzein. Food Chem. 2018; 267:163-69.
14. Veselovsky VA, Boldyreva DI, Olekhovich EI, Klimina KM, Babenko VV, Zakharevich NV, et al. Effect of the consumption of brazzein and monellin, two recombinant sweet-tasting proteins, on rat gut microbiota. Front Nutr. 2024; 11:1362529.
15. Zhao XZ, Wang CR, Zheng Y, Liu B. New Insight Into the Structure-Activity Relationship of Sweet-Tasting Proteins: Protein Sector and Its Role for Sweet Properties [Article]. Front Nutr. 2021; 8:7.
16. Farag MA, Rezk MM, Hamdi Elashal M, El-Araby M, Khalifa SAM, El-Seedi HR. An updated multifaceted overview of sweet proteins and dipeptides as sugar

substitutes; the chemistry, health benefits, gut interactions, and safety. *Food Res Int.* 2022; 162(Pt A):111853.

17. McFarland C, Alkotaini B, Cowen CP, Edwards MG, Grein E, Hahn AD, et al. Discovery, Expression, and In Silico Safety Evaluation of Honey Truffle Sweetener, a Sweet Protein Derived from *Mattirolomyces terfezioides* and Produced by Heterologous Expression in *Komagataella phaffii*. *J Agric Food Chem.* 2024; 72(35):19470-79.

18. Song XD, Yi YT, Liu L, He MJ, Deng SW, Tian H, et al. Design and development of a high temperature stable sweet protein base on monellin [Article]. *Process Biochem.* 2020; 89:29-36.

19. Bilal M, Ji LY, Xu S, Zhang Y, Iqbal HMN, Cheng HR. Bioprospecting and biotechnological insights into sweet-tasting proteins by microbial hosts? a review [Review]. *Bioengineered.* 2022; 13(4):9815-28.

20. Wulandari Z, Fardiaz D, Thenawidjaja M, Yuliana ND, Budiman C. Purification and sweetness properties of egg white lysozymes from Indonesian local poultry of ayam kampung and Cihateup duck [Article]. *J Food Meas Charact.* 2020; 14(1):366-77.

21. Kashani-Amin E, Faraji H, Nouriyengejeh S, Ebrahim-Habibi A. Structure-Sweetness Relationship of Sweet Proteins: A Systematic Review on “Sweet Protein” Studies as a Sub-Group of “Sweetener” Investigations [Review]. *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2021; 76(4):175-90.

22. Acevedo W, Ramírez-Sarmiento CA, Agosin E. Identifying the interactions between natural, non-caloric sweeteners and the human sweet receptor by molecular docking. *Food Chem.* 2018; 264:164-71.

23. Masuda T. Sweet-Tasting Protein Thaumatin: Physical and Chemical Properties. In: *Reference Series in Phytochemistry.* 2018. p. 493-523.

24. Younes M, Aquilina G, Castle L, Engel KH, Fowler P, Fernandez MJF, et al. Re-evaluation of thaumatin (E 957) as food additive [Article]. *Efsa J.* 2021; 19(11):72.

25. Firsov AP, Pushin AS, Dolgov SV. Transgenic Plants as Producers of Supersweet Protein Thaumatin II. In: *Reference Series in Phytochemistry.* 2018. p. 185-209.

26. Lu R, Li XM, Wang YC, Jin L. Expression of functional plant sweet protein thaumatin II in the milk of transgenic mice [Article]. *Food Bioprod Process.* 2021; 125:222-27.

27. Pomon B, Zhao Y, Lai AL, Lin T, Freed JH, Abbaspourrad A. Thermal Degradation of Thaumatin at Low pH and Its Prevention Using Alkyl Gallates. *Food Hydrocoll.* 2023; 139

28. Joseph JA, Akkermans S, Tsakali E, Van Impe JFM. Determination of recombinant thaumatin II secreted by *Pichia pastoris* using reversed-phase high-performance liquid chromatography [Article]. *Food Bioprod Process.* 2023; 137:93-98.

29. Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos. Sweeteners. 2025. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/sweeteners>.

30. Comissão Europeia. 2025. [citado em: 03/06/2025]. Food and Feed Information Portal Database. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/food-additives/search>.

31. U.S. Food and Drug Administration. 2025. [citado em: 03/06/2025]. GRAS Notices. Disponível em: https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=.
32. Kelada KD, Tusé D, Gleba Y, McDonald KA, Nandi S. Process Simulation and Techno-Economic Analysis of Large-Scale Bioproduction of Sweet Protein Thaumatin II. *Foods*. 2021; 10(4)
33. Joseph JA, Akkermans S, Nimmegeers P, Van Impe JFM. Bioproduction of the Recombinant Sweet Protein Thaumatin: Current State of the Art and Perspectives. *Front Microbiol*. 2019; 10:695.
34. Akter S, Huq MA, Jung YJ, Kang KK. Expression of thaumatin, a new type of alternative sweetener in rice [Article]. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Na*. 2020; 48(3):1276-91.
35. Jung YJ, Kang KK. Stable expression and characterization of brazzein, thaumatin and miraculin genes related to sweet protein in transgenic lettuce [Article]. *Journal of Plant Biotechnology*. 2018; 45(3):257-65.
36. Markova EV, Leonova EI, Sopova JV. [Sweet protein brazzein as a promising sweetener]. *Vopr Pitan*. 2024; 93(1):61-71.
37. Neiers F, Naumer C, Krohn M, Briand L. The Recent Development of a Sweet-Tasting Brazzein and its Potential Industrial Applications. In: *Reference Series in Phytochemistry*. 2018. p. 527-46.
38. Zuo JN, Zheng W, Shi N, Song R, Han F, Yang C, et al. Study on the Thermal Stability of the Sweet-Tasting Protein Brazzein Based on Its Structure-Sweetness Relationship [Article]. *J Agric Food Chem*. 2024; 72(13):7374-82.
39. Nicholas Chua B, Mei Guo W, Teng Wong H, Siak-Wei Ow D, Leng Ho P, Koh W, et al. A sweeter future: Using protein language models for exploring sweeter brazzein homologs [Article]. *Food Chem*. 2023; 426
40. Hong S, Kim H, Kong KH, Hong S. 3M-Brazzein as a natural sugar substitute rescued obesity in maternal and offspring mice [Article]. *J Funct Food*. 2024; 115:13.
41. Choi HE, Lee JI, Jo SY, Chae YC, Lee JH, Sun HJ, et al. Functional expression of the sweet-tasting protein brazzein in transgenic tobacco [Article]. *Food Sci Technol*. 2022; 42:11.
42. Lu R, Li XM, Hu J, Zhang Y, Wang YC, Jin L. Expression of a triple mutational des-pGlu brazzein in transgenic mouse milk [Article]. *Febs Open Bio*. 2022; 12(7):1336-43.
43. Saraiva A, Carrascosa C, Ramos F, Raheem D, Pedreiro S, Vega A, et al. Brazzein and Monellin: Chemical Analysis, Food Industry Applications, Safety and Quality Control, Nutritional Profile and Health Impacts. *Foods*. 2023; 12(10)
44. Meetro J, Nahian L, Phipps KR, Vo TD, Dahms I, Lalpuria M, et al. Toxicological Evaluation of the Sweet Protein Brazzein Derived From *Komagataella phaffii* for Use as a Sweetener in Foods and Beverages. *J Appl Toxicol*. 2025
45. Novik TS, Koveshnikova EI, Kotlobay AA, Sycheva LP, Kurochkina KG, Averina OA, et al. Sweet-Tasting Natural Proteins Brazzein and Monellin: Safe Sugar Substitutes for the Food Industry. *Foods*. 2023; 12(22)
46. Liu B, Jiang H, Wang H, Yang L. Removal of the N-terminal methionine improves the sweetness of the recombinant expressed sweet-tasting protein brazzein and its mutants in *Escherichia coli*. *J Food Biochem*. 2021; 45(3):e13354.

47. Park SW, Kang BH, Lee HM, Lee SJ, Kim HS, Choi HW, et al. Efficient brazzein production in yeast (*Kluyveromyces lactis*) using a chemically defined medium. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2021; 44(4):913-25.
48. Han JE, Lee H, Ho TT, Park SY. Brazzein protein production in transgenic carrot cells using air-lift bioreactor culture [Article]. *Plant Biotechnol Rep*. 2022; 16(2):161-71.
49. Lee J, Jo H, Kong J, Kong K. Biochemical activities of sweet-tasting protein brazzein in addition to its sweetness [Meeting Abstract]. *Febs Open Bio*. 2018; 8:168-68.
50. Comissão Europeia. Union list of novel foods. 2025. Disponível em: https://food.ec.europa.eu/food-safety/novel-food/authorisations/union-list-novel-foods_en#about-the-union-list.
51. Lu R, Li XM, Hu J, Wang YC, Jin L. Expression of a single-chain monellin (MNEI) mutant with enhanced stability in transgenic mice milk [Article]. *Transgenic Res*. 2024; 33(4):211-18.
52. Delfi M, Emendato A, Leone S, Lampitella EA, Porcaro P, Cardinale G, et al. A Super Stable Mutant of the Plant Protein Monellin Endowed with Enhanced Sweetness. *Life (Basel)*. 2021; 11(3)
53. Liu YM, Liu S, Xu JY, Ma MX, You TJ, Ye S. Computational design towards a boiling-resistant single-chain sweet protein monellin [Article]. *Food Chem*. 2024; 440:9.
54. Ohnuma K, Yamashita A, Yasui N. Investigating the Effect of Substituting a Single Cysteine Residue on the Thermal Stability of an Engineered Sweet Protein, Single-Chain Monellin. *Protein J*. 2023; 42(6):698-708.
55. Lifshitz Y, Paz S, Saban R, Zuker I, Shmueli H, Gorshkov K, et al. Safety Evaluation of Serendipity Berry Sweet Protein From *Komagataella phaffii*. *J Appl Toxicol*. 2025
56. Li K, Zheng JW, Yu LY, Wang B, Pan L. Exploration of the Strategy for Improving the Expression of Heterologous Sweet Protein Monellin in *Aspergillus niger* [Article]. *J Fungi*. 2023; 9(5):17.
57. Bagryantseva OV, Bessonov VV, Bokov DO, Gureu ZG, Lyashenko EV. Hygienic assessment and prospects for the use of protein-based sweeteners in food production [Review]. *Voprosy Pitaniia*. 2024; 93(6):27-36.
58. Ma MX, Shi S, Huang ZF, Qi TT, You TJ, Wang Y, et al. Enhancing the Stability of Sweet Protein Neoculin for Food Applications Using Computational Strategies [Article]. *J Agric Food Chem*. 2025; 73(11):6867-77.
59. Okubo S, Terauchi K, Okada S, Saito Y, Yamaura T, Misaka T, et al. De novo transcriptome analysis and comparative expression profiling of genes associated with the taste-modifying protein neoculin in *Curculigo latifolia* and *Curculigo capitulata* fruits [Article]. *Bmc Genomics*. 2021; 22(1):19.
60. Barre A, Caze-Subra S, Gironde C, Bienvenu F, Bienvenu J, Rougé P. What about the allergenicity of sweet-tasting proteins? [Article]. *Rev Fr Allergol*. 2015; 55(5):363-71.
61. Swiader K, Wegner K, Piotrowska A, Tan FJ, Sadowska A. Plants as a source of natural high-intensity sweeteners: A review [Article]. *J Appl Bot Food Qual*. 2019; 92:160-71.
62. López-Plaza B, Alvarez-Mercado AI, Arcos-Castellanos L, Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Brandimonte-Hernández M, et al. Efficacy and Safety of Habitual

Consumption of a Food Supplement Containing Miraculin in Malnourished Cancer Patients: The CLINMIR Pilot Study [Article]. *Nutrients*. 2024; 16(12):26.

63. Sadhana HM, Joghee S. *Synsepalum dulcificum*: A review [Review]. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2020; 11(3):4208-13.

64. Ezura H, Hiwasa-Tanase K. Mass Production of the Taste-Modifying Protein Miraculin in Transgenic Plants. In: *Reference Series in Phytochemistry*. 2016. p. 1-18.

65. Yusuf EH. Taste masking in vegan food processing with natural substitutes [Article]. *Future Food*. 2022; 11(1):1.

66. Tafazoli S, Vo TD, Roberts A, Rodriguez C, Viñas R, Madonna ME, et al. Safety assessment of miraculin using in silico and in vitro digestibility analyses [Article]. *Food Chem Toxicol*. 2019; 133:10.

67. Castiglia D, Leone S, Tamburino R, Sannino L, Fonderico J, Melchiorre C, et al. High-level production of single chain monellin mutants with enhanced sweetness and stability in tobacco chloroplasts. *Planta*. 2018; 248(2):465-76.

68. Gu WL, Xia QY, Yao J, Fu SP, Guo JC, Hu XW. Recombinant expressions of sweet plant protein mabinlin II in *Escherichia coli* and food-grade *Lactococcus lactis* [Article]. *World J Microbiol Biotechnol*. 2015; 31(4):557-67.

Anexos e apêndices

Índice de anexos/apêndices

Anexo 1 - Parecer Coorientador de Estágio 22

Apêndice 1 - Diagrama de Fluxo Relativo à Metodologia..... 23

Anexo 1 - Parecer Coordenador de Estágio



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

PARECER

Na qualidade de coordenador do trabalho desenvolvido pelo estudante Luís Miguel Abilheira da Costa, no âmbito do seu Trabalho Complementar, venho expressar a minha avaliação claramente positiva relativamente à execução do projeto intitulado "Proteínas com Sabor Doce como Substituto de Açúcar na Indústria Alimentar".

O estudante demonstrou uma elevada competência na condução de uma revisão sistemática da literatura, estruturando o trabalho com rigor metodológico, clareza conceptual e solidez na análise crítica dos dados. A capacidade de identificar, organizar e interpretar informação científica relevante, aliada a uma abordagem consistente e atualizada, foram determinantes para a qualidade final do documento.

Destaco ainda a sua autonomia, persistência e empenho ao longo do processo, que se traduziu num trabalho bem fundamentado, com relevância científica e aplicabilidade no domínio da inovação alimentar.

Considero, por isso, que o estudante evidenciou as competências necessárias para o desenvolvimento de investigação científica nesta área, sendo o trabalho realizado merecedor de uma avaliação muito positiva.

Porto, 27 de junho de 2025

Assinado por: **Duarte Paulo Martins Torres**
Num. de identificação: 10821943



Duarte Paulo Martins Torres
Professor Associado da FCNAUP

Apêndice 1 - Diagrama de Fluxo Relativo à Metodologia



