

II

(Atti non legislativi)

REGOLAMENTI

REGOLAMENTO (UE) 2022/1922 DELLA COMMISSIONE

del 10 ottobre 2022

recante modifica dell'allegato del regolamento (UE) n. 231/2012 che stabilisce le specifiche degli additivi alimentari elencati negli allegati II e III del regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le specifiche dei rebaudiosidi M, D e AM prodotti mediante conversione enzimatica di estratti purificati di foglie di Stevia e le specifiche del rebaudioside M prodotto mediante modificazione enzimatica dei glicosidi steviolici da Stevia [E 960c (i)]

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2008, relativo agli additivi alimentari ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 14,

visto il regolamento (CE) n. 1331/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2008, che istituisce una procedura uniforme di autorizzazione per gli additivi, gli enzimi e gli aromi alimentari ⁽²⁾, in particolare l'articolo 7, paragrafo 5,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (UE) n. 231/2012 della Commissione ⁽³⁾ stabilisce le specifiche degli additivi alimentari elencati negli allegati II e III del regolamento (CE) n. 1333/2008.
- (2) Le specifiche degli additivi alimentari possono essere aggiornate secondo la procedura uniforme di cui all'articolo 3, paragrafo 1, del regolamento (CE) n. 1331/2008, su iniziativa della Commissione o a seguito di una domanda presentata da uno Stato membro o da una persona interessata.
- (3) Gli additivi alimentari attualmente autorizzati «glicosidi steviolici prodotti enzimaticamente» (E 960c) sono inclusi nel gruppo «E 960a-960c: glicosidi steviolici» nell'allegato II, parte C, del regolamento (CE) n. 1333/2008.
- (4) Il regolamento (UE) n. 231/2012 stabilisce che il «rebaudioside M prodotto mediante modificazione enzimatica dei glicosidi steviolici da Stevia» (E 960c (i)) è ottenuto mediante bioconversione enzimatica di estratti purificati di glicosidi steviolici ricavati da foglie della pianta *Stevia rebaudiana* Bertoni, utilizzando gli enzimi UDP-glucosiltransferasi e saccarosio sintasi prodotti dai lieviti geneticamente modificati *K. phaffii* UGT-a e *K. phaffii* UGT-b.

⁽¹⁾ GU L 354 del 31.12.2008, pag. 16.

⁽²⁾ GU L 354 del 31.12.2008, pag. 1.

⁽³⁾ Regolamento (UE) n. 231/2012 della Commissione, del 9 marzo 2012, che stabilisce le specifiche degli additivi alimentari elencati negli allegati II e III del regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio (GU L 83 del 22.3.2012, pag. 1).

- (5) Il 18 febbraio 2019 è stata presentata alla Commissione una domanda di modifica delle specifiche riguardanti l'additivo alimentare glicosidi steviolici (E 960). La Commissione ha reso la domanda accessibile agli Stati membri a norma dell'articolo 4 del regolamento (CE) n. 1331/2008.
- (6) Nel giugno 2021 il richiedente ha riveduto la sua domanda e ha chiesto di utilizzare come processo alternativo di produzione dell'E 960c la conversione enzimatica di rebaudioside A o stevioside ricavati da estratti altamente purificati di foglie di Stevia, rispettivamente, nei rebaudiosidi M e D e nel rebaudioside AM, utilizzando enzimi prodotti da microrganismi geneticamente modificati derivati da ceppi di *E. coli* K-12.
- (7) Il nuovo processo di produzione proposto prevede la conversione enzimatica di rebaudioside A o stevioside ricavato da estratti purificati di foglie di Stevia (≥ 95 % di glicosidi steviolici) mediante un procedimento enzimatico multifase con enzimi preparati nella prima fase del processo. A seconda della diversa durata della reazione enzimatica sul rebaudioside A e sullo stevioside ricavati da estratti purificati di foglie di Stevia, è possibile ottenere tre miscele principali con un elevato tenore di rebaudiosidi M, D e AM. Le miscele risultanti sono sottoposte a una serie di fasi di purificazione e isolamento al fine di produrre il rebaudioside M, D o AM finale (≥ 95 % di glicosidi steviolici).
- (8) L'Autorità europea per la sicurezza alimentare («Autorità») ha valutato la sicurezza dei «preparati di glicosidi steviolici ottenuti mediante bioconversione enzimatica di rebaudioside A o stevioside ricavati da estratti altamente purificati di foglie di Stevia» e ha adottato il suo parere il 22 giugno 2021 ⁽⁴⁾. L'Autorità ha ritenuto che non sussiste alcun rischio per la sicurezza per quanto riguarda i glicosidi steviolici con un elevato tenore di rebaudioside M, rebaudioside D e rebaudioside AM, se ottenuti mediante il processo in questione, da utilizzare come additivi alimentari. Ha ritenuto che l'esposizione al rebaudioside AM (espresso come equivalente in steviolici) non sarebbe superiore all'esposizione ai glicosidi steviolici (E 960a) se questi fossero sostituiti dal rebaudioside AM. L'Autorità ha inoltre concluso che la DGA di 4 mg/kg di peso corporeo al giorno che si applica ai 60 glicosidi steviolici elencati nell'appendice A del parere adottato il 24 marzo 2020 ⁽⁵⁾, espressi come equivalente in steviolici, si applica anche ai rebaudiosidi M, D e AM ottenuti mediante la bioconversione enzimatica in questione.
- (9) Le specifiche per i rebaudiosidi M, D e AM prodotti mediante conversione enzimatica del rebaudioside A o stevioside a partire da estratti purificati di foglie di Stevia dovrebbero pertanto essere fissate nell'allegato del regolamento (UE) n. 231/2012.
- (10) Al fine di garantire la chiarezza è inoltre opportuno allineare l'attuale definizione dell'additivo «Rebaudioside M prodotto mediante modificazione enzimatica dei glicosidi steviolici da Stevia» di cui alla voce E 960c (i) dell'allegato del regolamento (UE) n. 231/2012, alla formulazione delle conclusioni dell'Autorità sulla sicurezza del suo processo di fabbricazione per quanto riguarda l'assenza di cellule vitali e di DNA residuo dei lieviti *K. phaffii* UGT-a e *K. phaffii* UGT-b nell'additivo alimentare.
- (11) È pertanto opportuno modificare di conseguenza il regolamento (UE) n. 231/2012.
- (12) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

L'allegato del regolamento (UE) n. 231/2012 è modificato conformemente all'allegato del presente regolamento.

Articolo 2

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

⁽⁴⁾ EFSA Journal 2021; 19(7):6691 (22 pagg.).

⁽⁵⁾ EFSA Journal 2020; 18(4):6106 (32 pagg.).

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 10 ottobre 2022

Per la Commissione
La presidente
Ursula VON DER LEYEN

ALLEGATO

L'allegato del regolamento (UE) n. 231/2012 è così modificato:

- 1) alla voce E 960c (i) relativa al rebaudioside M prodotto mediante modificazione enzimatica dei glicosidi steviolici da Stevia, nella riga «Definizione» l'ultima frase è sostituita dalla seguente:

«Nell'additivo alimentare non si devono rilevare cellule vitali dei lieviti *K. phaffii* UGT-a e *K. phaffii* UGT-b né il loro DNA.»;

- 2) dopo la voce relativa a E 960c (i) sono inserite le voci seguenti:

«E 960c (ii) REBAUDIOSIDE M PRODOTTO MEDIANTE CONVERSIONE ENZIMATICA DI REBAUDIOSIDE A DA ESTRATTI ALTAMENTE PURIFICATI DI FOGLIE DI STEVIA

Sinonimi			
Definizione	<p>Il rebaudioside M prodotto mediante conversione enzimatica del rebaudioside A da estratti altamente purificati di foglie di Stevia è un glicoside steviolico prevalentemente costituito da rebaudioside M con quantità minori di altri glicosidi steviolici quali rebaudioside A e rebaudioside D.</p> <p>Il rebaudioside M è prodotto mediante conversione enzimatica di estratti altamente purificati del glicoside steviolico rebaudioside A (95 % di glicosidi steviolici) ottenuti dalla pianta di <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni utilizzando gli enzimi UDP-glucosiltransferasi e saccarosio sintasi prodotti dai ceppi geneticamente modificati di <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) che facilitano il trasferimento del glucosio dal saccarosio e dall'UDP-glucosio ai glicosidi steviolici attraverso legami glicosidici. Dopo la rimozione degli enzimi mediante separazione solido-liquido e trattamento termico, la purificazione comporta la concentrazione del rebaudioside M mediante assorbimento della resina, seguita dalla ricristallizzazione dei glicosidi steviolici, risultante in un prodotto finale contenente non meno del 95 % di rebaudioside M. Nell'additivo alimentare non si devono rilevare cellule vitali di <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) né il loro DNA.</p>		
Denominazione chimica	Rebaudioside M: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, 2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl ester		
Formula molecolare	Nome comune	Formula	Fattore di conversione
	Rebaudioside M	C ₅₆ H ₉₀ O ₃₃	0,25
Peso molecolare e n. CAS	Nome comune	Numero CAS	Peso molecolare (g/mol)
	Rebaudioside M	1220616-44-3	1 291,29
Tenore	Non meno del 95 % di rebaudioside M sulla sostanza secca.		
Descrizione	Polvere bianco-giallina. Potere dolcificante da 150 a 350 volte superiore a quello del saccarosio (saccarosio equivalente al 5 %).		
Identificazione			
Solubilità	Da solubile a debolmente solubile in acqua		
pH	Tra 4,5 e 7,0 (soluzione 1 a 100)		
Purezza			
Ceneri totali	Non più dell'1 %		
Perdita all'essiccazione	Non più del 6 % (105 °C, 2 ore)		

Solventi residui	Non più di 5 000 mg/kg etanolo
Arsenico	Non più di 0,015 mg/kg
Piombo	Non più di 0,2 mg/kg
Cadmio	Non più di 0,015 mg/kg
Mercurio	Non più di 0,07 mg/kg
Proteine residue	Non più di 5 mg/kg
Dimensione delle particelle	Non meno di 74 µm [utilizzando un setaccio a maglie #200 con un limite di dimensione delle particelle pari a 74 µm].

E 960c (iii) REBAUDIOSIDE D PRODOTTO MEDIANTE CONVERSIONE ENZIMATICA DI REBAUDIOSIDE A DA ESTRATTI ALTAMENTE PURIFICATI DI FOGLIE DI STEVIA

Sinonimi			
Definizione	<p>Il rebaudioside D prodotto mediante conversione enzimatica del rebaudioside A da estratti altamente purificati di foglie di Stevia è un glicoside steviolico prevalentemente costituito da rebaudioside D con quantità minori di altri glicosidi steviolici quali rebaudioside A e rebaudioside M.</p> <p>Il rebaudioside D è prodotto mediante conversione enzimatica di estratti altamente purificati del glicoside steviolico rebaudioside A (95 % di glicosidi steviolici) ottenuti dalla pianta di <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, utilizzando gli enzimi UDP-glucosiltransferasi e saccarosio sintasi prodotti dai ceppi geneticamente modificati <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) che facilitano il trasferimento del glucosio dal saccarosio e dall'UDP-glucosio ai glicosidi steviolici attraverso legami glicosidici. Dopo la rimozione degli enzimi mediante separazione solido-liquido e trattamento termico, la purificazione comporta la concentrazione del rebaudioside D mediante assorbimento della resina, seguita dalla ricristallizzazione dei glicosidi steviolici risultante in un prodotto finale contenente non meno del 95 % di rebaudioside D e rebaudioside A. Nell'additivo alimentare non si devono rilevare cellule vitali di <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) né il loro DNA.</p>		
Denominazione chimica	<p>Rebaudioside D: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, 2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl ester.</p> <p>Rebaudioside A: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, β-D-glucopyranosyl ester</p>		
Formula molecolare	Nome comune	Formula	Fattore di conversione
	Rebaudioside D	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	0,29
	Rebaudioside A	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	0,33
Peso molecolare e n. CAS	Nome comune	Numero CAS	Peso molecolare (g/mol)
	Rebaudioside D	63279-13-0	1 291,15
	Rebaudioside A	58543-16-1	967,01
Tenore	Non meno del 95 % di rebaudiosidi D e A sulla sostanza secca.		
Descrizione	Polvere bianco-giallina. Potere dolcificante da 150 a 350 volte superiore a quello del saccarosio (saccarosio equivalente al 5 %).		

Identificazione	
Solubilità	Da solubile a debolmente solubile in acqua
pH	Tra 4,5 e 7,0 (soluzione 1 a 100)
Purezza	
Ceneri totali	Non più dell'1 %
Perdita all'essiccazione	Non più del 6 % (105 °C, 2 ore)
Solventi residui	Non più di 5 000 mg/kg etanolo
Arsenico	Non più di 0,015 mg/kg
Piombo	Non più di 0,2 mg/kg
Cadmio	Non più di 0,015 mg/kg
Mercurio	Non più di 0,07 mg/kg
Proteine residue	Non più di 5 mg/kg
Dimensione delle particelle	Non meno di 74 µm [utilizzando un setaccio a maglie #200 con un limite di dimensione delle particelle pari a 74 µm].

E 960c (iv) REBAUDIOSIDE AM PRODOTTO MEDIANTE CONVERSIONE ENZIMATICA DI STEVIOSIDE DA ESTRATTI ALTAMENTE PURIFICATI DI FOGLIE DI STEVIA

Sinonimi			
Definizione			
<p>Il rebaudioside AM prodotto mediante conversione enzimatica dello stevioside da estratti altamente purificati di foglie di Stevia è un glicoside steviolico prevalentemente costituito da rebaudioside AM con quantità minori di altri glicosidi steviolici quali stevioside e rebaudioside E. Il rebaudioside AM è prodotto mediante conversione enzimatica di estratti altamente purificati del glicoside steviolico steviolo (95 % di glicosidi steviolici) ottenuti dalla pianta di <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, utilizzando gli enzimi UDP-glucosiltransferasi e saccarosio sintasi prodotti dai ceppi geneticamente modificati <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) che facilitano il trasferimento del glucosio dal saccarosio e dall'UDP-glucosio ai glicosidi steviolici attraverso legami glicosidici. Dopo la rimozione degli enzimi mediante separazione solido-liquido e trattamento termico, la purificazione comporta la concentrazione del rebaudioside AM mediante assorbimento della resina, seguita dalla ricristallizzazione dei glicosidi steviolici risultante in un prodotto finale contenente non meno del 95 % di rebaudioside AM. Nell'additivo alimentare non si devono rilevare cellule vitali di <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) né il loro DNA.</p>			
Denominazione chimica			
Rebaudioside AM: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, 2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl ester.			
Formula molecolare	Nome comune	Formula	Fattore di conversione
	Rebaudioside AM	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	0,29
Peso molecolare e n. CAS	Nome comune	Numero CAS	Peso molecolare (g/mol)
	Rebaudioside AM	2222580-26-7	1 291,15
Tenore			
Non meno del 95 % di rebaudioside AM sulla sostanza secca.			

Descrizione	Polvere bianco-giallina. Potere dolcificante da 150 a 350 volte superiore a quello del saccarosio (saccarosio equivalente al 5 %).
Identificazione	
Solubilità	Da solubile a debolmente solubile in acqua
pH	Tra 4,5 e 7,0 (soluzione 1 a 100)
Purezza	
Ceneri totali	Non più dell'1 %
Perdita all'essiccazione	Non più del 6 % (105 °C, 2 ore)
Solventi residui	Non più di 5 000 mg/kg etanolo
Arsenico	Non più di 0,015 mg/kg
Piombo	Non più di 0,2 mg/kg
Cadmio	Non più di 0,015 mg/kg
Mercurio	Non più di 0,07 mg/kg
Proteine residue	Non più di 5 mg/kg
Dimensione delle particelle	Non meno di 74 µm [utilizzando un setaccio a maglie #200 con un limite di dimensione delle particelle pari a 74 µm].