



Consiglio
dell'Unione europea

Bruxelles, 29 luglio 2022
(OR. en)

11654/22
ADD 1

DENLEG 60
FOOD 49
SAN 476

NOTA DI TRASMISSIONE

Origine: Commissione europea

Data: 27 luglio 2022

Destinatario: Segretariato generale del Consiglio

n. doc. Comm.: D082598/03 ANNEX

Oggetto: ALLEGATO del REGOLAMENTO (EU) .../... DELLA COMMISSIONE 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))

Si trasmette in allegato, per le delegazioni, il documento D082598/03 ANNEX.

All.: D082598/03 ANNEX



COMMISSIONE
EUROPEA

Bruxelles, **XXX**
PLAN/752/2022 Rev. 2 ANNEX
(POOL/E2/2022/752/752R2-EN
ANNEX.docx) D082598/03
[...](2022) **XXX** draft

ANNEX

ALLEGATO

del

REGOLAMENTO (EU) .../... DELLA COMMISSIONE

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))

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,</p>

	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.		
Denominazione chimica	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. 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		
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.</p> <p>Il rebaudioside AM è prodotto mediante conversione enzimatica di estratti altamente purificati del glicoside steviolico steviololo (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- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, 2- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-3- <i>O</i> -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].

".