

## II

(Actos no legislativos)

## REGLAMENTOS

## REGLAMENTO (UE) 2022/1922 DE LA COMISIÓN

de 10 de octubre de 2022

**que modifica el anexo del Reglamento (UE) n.º 231/2012, por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n.º 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, en lo que respecta a las especificaciones para los rebaudiósidos M, D y AM producidos mediante conversión enzimática de extractos de hojas de estevia purificados y a las especificaciones para el rebaudiósido M producido mediante modificación enzimática de glucósidos de esteviol procedentes de estevia [E 960c(i)]**

(Texto pertinente a efectos del EEE)

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (CE) n.º 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios <sup>(1)</sup>, y en particular su artículo 14,

Visto el Reglamento (CE) n.º 1331/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, por el que se establece un procedimiento de autorización común para los aditivos, las enzimas y los aromas alimentarios <sup>(2)</sup>, y en particular su artículo 7, apartado 5,

Considerando lo siguiente:

- (1) En el Reglamento (UE) n.º 231/2012 de la Comisión <sup>(3)</sup> se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n.º 1333/2008.
- (2) Las especificaciones para los aditivos alimentarios pueden ser actualizadas de conformidad con el procedimiento común contemplado en el artículo 3, apartado 1, del Reglamento (CE) n.º 1331/2008, bien a iniciativa de la Comisión, bien en respuesta a la solicitud de un Estado miembro o de una persona interesada.
- (3) El aditivo alimentario actualmente autorizado glucósidos de esteviol producidos enzimáticamente (E 960c) está incluido en el grupo de los glucósidos de esteviol (E 960a-E 960c) de la parte C del anexo II del Reglamento (CE) n.º 1333/2008.
- (4) El Reglamento (UE) n.º 231/2012 establece que el rebaudiósido M producido mediante la modificación enzimática de glucósidos de esteviol procedentes de estevia [E 960c(i)] se obtiene mediante bioconversión enzimática de extractos de glucósido de esteviol purificados procedentes de la hoja de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, utilizando las enzimas UDP-glucosiltransferasa y sacarosa—sintasa producidas por las levaduras modificadas genéticamente *K. phaffi* UGT-a y *K. phaffi* UGT-b.

<sup>(1)</sup> DO L 354 de 31.12.2008, p. 16.

<sup>(2)</sup> DO L 354 de 31.12.2008, p. 1.

<sup>(3)</sup> Reglamento (UE) n.º 231/2012 de la Comisión, de 9 de marzo de 2012, por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n.º 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo (DO L 83 de 22.3.2012, p. 1).

- (5) El 18 de febrero de 2019 se presentó a la Comisión una solicitud de modificación de las especificaciones relativas al aditivo alimentario glucósidos de esteviol (E 960). En virtud de lo dispuesto en el artículo 4 del Reglamento (CE) n.º 1331/2008, la Comisión permitió el acceso de los Estados miembros a la solicitud.
- (6) El 2021 de junio, el solicitante revisó su solicitud y pidió que la conversión enzimática del rebaudiósido A o del esteviósido muy purificados a partir de extractos de hojas de estevia en rebaudiósidos M y D y rebaudiósido AM, respectivamente, utilizando enzimas producidas por microorganismos modificados genéticamente derivados de cepas de *Escherichia coli* K-12, se utilizase como proceso de producción alternativo para el E 960c.
- (7) Este nuevo proceso de producción sugerido implica la conversión enzimática del rebaudiósido A o del esteviósido purificados a partir de extracto de hojas de estevia ( $\geq 95$  % de glucósidos de esteviol) a través de un proceso enzimático en varios pasos con enzimas preparadas en la primera etapa del proceso. En función de la diferente duración de la reacción enzimática sobre el rebaudiósido A y sobre el esteviósido purificados a partir de extractos de hojas de estevia pueden obtenerse tres mezclas principales con un alto contenido de rebaudiósidos M, D y AM. Las mezclas resultantes se someten a una serie de etapas de purificación y aislamiento para producir los rebaudiósidos M, D o AM final ( $\geq 95$  % de glucósidos de esteviol).
- (8) La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria («la Autoridad») evaluó la seguridad de los preparados de glucósidos de esteviol obtenidos por bioconversión enzimática del rebaudiósido A o del esteviósido muy purificados a partir de extractos de hojas de estevia, y adoptó el dictamen correspondiente el 22 de junio de 2021 (\*). La Autoridad consideró que el uso como aditivos alimentarios de glucósidos de esteviol con un alto contenido de rebaudiósido M, rebaudiósido D o rebaudiósido AM, en caso de haberse obtenido mediante el proceso en cuestión, no plantea ningún problema de seguridad. La Autoridad consideró que la exposición al rebaudiósido AM (expresado como equivalentes de esteviol) no será superior a la exposición a los glucósidos de esteviol (E 960a), si estos se sustituyeran por rebaudiósido AM. Asimismo, concluyó que la ingesta diaria admisible de 4 mg/kg de peso corporal al día aplicable a los sesenta glucósidos de esteviol que figuran en el apéndice A del dictamen adoptado el 24 de marzo de 2020 (†), expresada como equivalentes de esteviol, también es aplicable a los rebaudiósidos M, D y AM obtenidos mediante la bioconversión enzimática en cuestión.
- (9) Por tanto, en el anexo del Reglamento (UE) n.º 231/2012 deben establecerse las especificaciones para los rebaudiósidos M, D y AM producidos mediante conversión enzimática del rebaudiósido A o del esteviósido purificados a partir de extractos de hojas de estevia.
- (10) Además, por motivos de claridad, conviene adaptar la definición actual del aditivo «rebaudiósido M producido mediante la modificación enzimática de glucósidos de esteviol procedentes de estevia», que figura en la entrada E 960c(i) del anexo del Reglamento (UE) n.º 231/2012, a los términos de la conclusión de la Autoridad sobre la seguridad de su proceso de fabricación, por lo que se refiere a la ausencia de células viables y de ADN residual de las levaduras *Komagataella phaffii* UGT-a y *K. phaffii* UGT-b en el aditivo alimentario.
- (11) Procede, por tanto, modificar el Reglamento (UE) n.º 231/2012 en consecuencia.
- (12) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

#### Artículo 1

Se modifica el anexo del Reglamento (UE) n.º 231/2012 de conformidad con el anexo del presente Reglamento.

#### Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor a los veinte días de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

(\*) *EFSA Journal* 2021;19(7):6691, 22 pp.

(†) *EFSA Journal* 2020;18(4):6106, 32 pp.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 10 de octubre de 2022.

*Por la Comisión*  
*La Presidenta*  
Ursula VON DER LEYEN

---

## ANEXO

El anexo del Reglamento (UE) n.º 231/2012 se modifica como sigue:

- 1) En la entrada E 960c(i) (Rebaudiósido M producido mediante la modificación enzimática de glucósidos de esteviol procedentes de estevia), en la fila «Definición», la última frase se sustituye por el texto siguiente:

«No deberán detectarse células viables de las levaduras *K. phaffii* UGT-a y *K. phaffii* UGT-b ni su ADN en el aditivo alimentario.».

- 2) Se insertan las entradas siguientes después de la relativa a E 960c(i):

**«E 960c(ii) REBAUDIÓSIDO M PRODUCIDO MEDIANTE CONVERSIÓN ENZIMÁTICA DE REBAUDIÓSIDO A MUY PURIFICADO A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJAS DE ESTEVIA**

<b>Sinónimos</b>			
<b>Definición</b>	<p>El rebaudiósido M producido mediante conversión enzimática de rebaudiósido A muy purificado a partir de extractos de hojas de estevia es un glucósido de esteviol compuesto predominantemente de rebaudiósido M con pequeñas cantidades de otros glucósidos de esteviol, como rebaudiósido A y rebaudiósido D.</p> <p>El rebaudiósido M se produce mediante conversión enzimática del glucósido de esteviol rebaudiósido A muy purificado (95 % de glucósidos de esteviol) a partir de extractos obtenidos de la planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, utilizando las enzimas UDP-glucosiltransferasa y sacarosa—sintasa producidas por las cepas modificadas genéticamente de <i>Escherichia coli</i> pPM294, pFAF170 y pSK401, que facilitan la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa y la sacarosa a los glucósidos de esteviol mediante la formación de enlaces glucosídicos. Tras la eliminación de las enzimas mediante separación sólido-líquido y tratamiento térmico, la purificación implica la concentración del rebaudiósido M por adsorción en resina, seguida de una recristalización de los glucósidos de esteviol que dará lugar a un producto final que contenga no menos del 95 % de rebaudiósido M. No deberán detectarse células viables de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 y pSK401) ni su ADN en el aditivo alimentario.</p>		
Denominación química	Rebaudiósido M: 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]kaur-16-en-18-oato de 2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo		
Fórmula molecular	Nombre vulgar	Fórmula	Factor de conversión
	Rebaudiósido M	C <sub>56</sub> H <sub>90</sub> O <sub>33</sub>	0,25
Peso molecular y n.º CAS	Nombre vulgar	Número CAS	Peso molecular (g/mol)
	Rebaudiósido M	1220616-44-3	1 291,29
Análisis	No menos del 95 % de rebaudiósido M en peso seco		
<b>Descripción</b>	Polvo de color amarillo claro, entre 150 y 350 veces más dulce que la sacarosa (equivalencia con la sacarosa al 5 %)		
<b>Identificación</b>			
Solubilidad	De fácilmente soluble a ligeramente soluble en agua		
pH	Entre 4,5 y 7,0 (solución al 1 %)		
<b>Pureza</b>			
Total de cenizas	No más del 1 %		
Pérdida por desecación	No más del 6 % (a 105 °C, 2 h)		

Disolvente residual	No más de 5 000 mg/kg de etanol
Arsénico	No más de 0,015 mg/kg
Plomo	No más de 0,2 mg/kg
Cadmio	No más de 0,015 mg/kg
Mercurio	No más de 0,07 mg/kg
Proteínas residuales	No más de 5 mg/kg
Tamaño de las partículas	No menos de 74 µm [utilizando un tamiz de malla n.º 200 con un límite de granulometría de 74 µm]

**E 960c(iii) REBAUDIÓSIDO D PRODUCIDO MEDIANTE CONVERSIÓN ENZIMÁTICA DE REBAUDIÓSIDO A MUY PURIFICADO A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJAS DE ESTEVIA**

<b>Sinónimos</b>			
<b>Definición</b>	<p>El rebaudiósido D producido mediante conversión enzimática de rebaudiósido A muy purificado a partir de extractos de hojas de estevia es un glucósido de esteviol compuesto predominantemente de rebaudiósido D con pequeñas cantidades de otros glucósidos de esteviol, como rebaudiósido A y rebaudiósido M.</p> <p>El rebaudiósido D se produce mediante conversión enzimática del glucósido de esteviol rebaudiósido A muy purificado (95 % de glucósidos de esteviol) a partir de extractos obtenidos de la planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, utilizando las enzimas UDP-glucosiltransferasa y sacarosa—sintasa producidas por las cepas modificadas genéticamente de <i>E. coli</i> pPM294, pFAF170 y pSK401, que facilitan la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa y la sacarosa a los glucósidos de esteviol mediante la formación de enlaces glucosídicos. Tras la eliminación de las enzimas mediante separación sólido-líquido y tratamiento térmico, la purificación implica la concentración del rebaudiósido D por adsorción en resina, seguida de una recrystalización de los glucósidos de esteviol que dará lugar a un producto final que contenga no menos del 95 % de rebaudiósido D y rebaudiósido A. No deberán detectarse células viables de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 y pSK401) ni su ADN en el aditivo alimentario.</p>		
Denominación química	<p>Rebaudiósido D: 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]kaur-16-en-18-oato de 2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo</p> <p>Rebaudiósido A: 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]kaur-16-en-18-oato de β-D-glucopiranosilo</p>		
Fórmula molecular	Nombre vulgar	Fórmula	Factor de conversión
	Rebaudiósido D	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	0,29
	Rebaudiósido A	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	0,33
Peso molecular y n.º CAS	Nombre vulgar	Número CAS	Peso molecular (g/mol)
	Rebaudiósido D	63279-13-0	1 291,15
	Rebaudiósido A	58543-16-1	967,01
Análisis	No menos del 95 % de rebaudiósidos D y A en peso seco		
<b>Descripción</b>	Polvo de color amarillo claro, entre 150 y 350 veces más dulce que la sacarosa (equivalencia con la sacarosa al 5 %)		

<b>Identificación</b>	
Solubilidad	De fácilmente soluble a ligeramente soluble en agua
pH	Entre 4,5 y 7,0 (solución al 1 %)
<b>Pureza</b>	
Total de cenizas	No más del 1 %
Pérdida por desecación	No más del 6 % (a 105 °C, 2 h)
Disolvente residual	No más de 5 000 mg/kg de etanol
Arsénico	No más de 0,015 mg/kg
Plomo	No más de 0,2 mg/kg
Cadmio	No más de 0,015 mg/kg
Mercurio	No más de 0,07 mg/kg
Proteínas residuales	No más de 5 mg/kg
Tamaño de las partículas	No menos de 74 µm [utilizando un tamiz de malla n.º 200 con un límite de granulometría de 74 µm]

**E 960c(iv) REBAUDIÓSIDO AM PRODUCIDO MEDIANTE CONVERSIÓN ENZIMÁTICA DE ESTEVIÓSIDO MUY PURIFICADO A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJAS DE ESTEVIA**

<b>Sinónimos</b>				
<b>Definición</b>		<p>El rebaudiósido AM producido mediante conversión enzimática de esteviósido muy purificado a partir de extractos de hojas de estevia es un glucósido de esteviol compuesto predominantemente de rebaudiósido AM con pequeñas cantidades de otros glucósidos de esteviol, como esteviósido y rebaudiósido E.</p> <p>El rebaudiósido AM se produce mediante conversión enzimática del glucósido de esteviol esteviósido muy purificado (95 % de glucósidos de esteviol) a partir de extractos obtenidos de la planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, utilizando las enzimas UDP-glucosiltransferasa y sacarosa—sintasa producidas por las cepas modificadas genéticamente de <i>E. coli</i> pPM294, pFAF170 y pSK401, que facilitan la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa y la sacarosa a los glucósidos de esteviol mediante la formación de enlaces glucosídicos. Tras la eliminación de las enzimas mediante separación sólido-líquido y tratamiento térmico, la purificación implica la concentración del rebaudiósido AM por adsorción en resina, seguida de una recristalización de los glucósidos de esteviol que dará lugar a un producto final que contenga no menos del 95 % de rebaudiósido AM. No deberán detectarse células viables de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 y pSK401) ni su ADN en el aditivo alimentario.</p>		
<b>Denominación química</b>		Rebaudiósido AM: 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]kaur-16-en-18-oato de 2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo		
<b>Fórmula molecular</b>		Nombre vulgar	Fórmula	Factor de conversión
		Rebaudiósido AM	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	0,29
<b>Peso molecular y n.º CAS</b>		Nombre vulgar	Número CAS	Peso molecular (g/mol)
		Rebaudiósido AM	2222580-26-7	1 291,15
<b>Análisis</b>		No menos del 95 % de rebaudiósido AM en peso seco		

<b>Descripción</b>	Polvo de color amarillo claro, entre 150 y 350 veces más dulce que la sacarosa (equivalencia con la sacarosa al 5 %).
<b>Identificación</b>	
Solubilidad	De fácilmente soluble a ligeramente soluble en agua
pH	Entre 4,5 y 7,0 (solución al 1 %)
<b>Pureza</b>	
Total de cenizas	No más del 1 %
Pérdida por desecación	No más del 6 % (a 105 °C, 2 h)
Disolvente residual	No más de 5 000 mg/kg de etanol
Arsénico	No más de 0,015 mg/kg
Plomo	No más de 0,2 mg/kg
Cadmio	No más de 0,015 mg/kg
Mercurio	No más de 0,07 mg/kg
Proteínas residuales	No más de 5 mg/kg
Tamaño de las partículas	No menos de 74 µm [utilizando un tamiz de malla n.º 200 con un límite de granulometría de 74 µm] »