

II

(Atos não legislativos)

REGULAMENTOS

REGULAMENTO (UE) 2022/1922 DA COMISSÃO

de 10 de outubro de 2022

que altera o anexo do Regulamento (UE) n.º 231/2012 que estabelece especificações para os aditivos alimentares enumerados nos anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, no que diz respeito às especificações para os rebaudiósidos M, D e AM produzidos através da conversão enzimática de extratos purificados de folhas de estévia e às especificações para o rebaudiósido M produzido através da modificação enzimática de glicosídeos de esteviol provenientes de estévia [E 960c(i)]

(Texto relevante para efeitos do EEE)

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro de 2008, relativo aos aditivos alimentares ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 14.º,

Tendo em conta o Regulamento (CE) n.º 1331/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro de 2008, que estabelece um procedimento de autorização comum aplicável a aditivos alimentares, enzimas alimentares e aromas alimentares ⁽²⁾, nomeadamente o artigo 7.º, n.º 5,

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (UE) n.º 231/2012 da Comissão ⁽³⁾ estabelece especificações para os aditivos alimentares enumerados nos anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 1333/2008.
- (2) As especificações dos aditivos alimentares podem ser atualizadas em conformidade com o procedimento comum a que se refere o artigo 3.º, n.º 1, do Regulamento (CE) n.º 1331/2008, quer por iniciativa da Comissão quer na sequência de um pedido de um Estado-Membro ou de uma parte interessada.
- (3) O aditivo alimentar atualmente autorizado «glicosídeos de esteviol produzidos enzimaticamente» (E 960c) está incluído no grupo «glicosídeos de esteviol (E960a-E960c)» do anexo II, parte C, do Regulamento (CE) n.º 1333/2008.
- (4) O Regulamento (UE) n.º 231/2012 estabelece que o «rebaudiósido M produzido através da modificação enzimática de glicosídeos de esteviol provenientes de estévia» [E 960c(i)] é obtido através da bioconversão enzimática de extratos de folhas purificados de glicosídeos de esteviol da planta *Stevia rebaudiana* Bertoni utilizando as enzimas UDP-glucosiltransferase e sacarose sintase produzidas pelas leveduras geneticamente modificadas *K. phaffi* UGT-a e *K. phaffi* UGT-b.

⁽¹⁾ JO L 354 de 31.12.2008, p. 16.

⁽²⁾ JO L 354 de 31.12.2008, p. 1.

⁽³⁾ Regulamento (UE) n.º 231/2012 da Comissão, de 9 de março de 2012, que estabelece especificações para os aditivos alimentares enumerados nos anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho (JO L 83 de 22.3.2012, p. 1).

- (5) Em 18 de fevereiro de 2019, foi apresentado à Comissão um pedido de alteração das especificações relativas ao aditivo alimentar glicosídeos de esteviol (E 960). A Comissão disponibilizou o pedido aos Estados-Membros em conformidade com o artigo 4.º do Regulamento (CE) n.º 1331/2008.
- (6) Em junho de 2021, o requerente reviu o seu pedido e solicitou a conversão enzimática de extratos altamente purificados de rebaudiósido A ou de esteviósido obtidos de folhas de estévia em rebaudiósidos M e D e rebaudiósido AM, respetivamente, utilizando enzimas produzidas por microrganismos geneticamente modificados derivados de estirpes de *E. coli* K-12, para utilização como processo de produção alternativo de E 960c.
- (7) O novo processo de produção proposto implica a conversão enzimática do extrato purificado de rebaudiósido A ou de esteviósido obtido de folhas de estévia (≥ 95 % de glicosídeos de esteviol) através de um processo enzimático com várias etapas, sendo as enzimas preparadas na primeira fase do processo. Mediante a duração da reação enzimática no extrato purificado de rebaudiósido A ou de esteviósido obtido de folhas de estévia, podem obter-se três misturas principais com um elevado teor dos rebaudiósidos M, D e AM. As misturas resultantes são submetidas a uma série de etapas de purificação e isolamento a fim de produzir o rebaudiósido M, D ou AM final (≥ 95 % de glicosídeos de esteviol).
- (8) A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos («Autoridade») avaliou a segurança das «preparações de glicosídeos de esteviol obtidas através da bioconversão enzimática dos extratos altamente purificados de rebaudiósido A ou de esteviósido obtidos de folhas de estévia» e adotou o seu parecer em 22 de junho de 2021 ⁽⁴⁾. A Autoridade considerou que não existe qualquer problema de segurança relativo aos glicosídeos de esteviol com um elevado teor de rebaudiósido M, rebaudiósido D e rebaudiósido AM, quando estes são obtidos pelo processo em questão, para utilização como aditivos alimentares. A Autoridade considerou que a exposição ao rebaudiósido AM (expresso em equivalente de esteviol) não será superior à exposição aos glicosídeos de esteviol (E 960) se estes fossem substituídos pelo rebaudiósido AM. A Autoridade concluiu ainda que a DDA de 4 mg/kg de peso corporal por dia aplicável aos 60 glicosídeos de esteviol enumerados no apêndice A do parecer adotado em 24 de março de 2020 ⁽⁵⁾, expressos em equivalente de esteviol, também se aplica aos rebaudiósidos M, D e AM obtidos pela bioconversão enzimática em questão.
- (9) Por conseguinte, devem ser estabelecidas no anexo do Regulamento (UE) n.º 231/2012 as especificações para os rebaudiósidos M, D e AM produzidos através da conversão enzimática do extrato purificado de rebaudiósido A ou de esteviósido obtido de folhas de estévia.
- (10) Além disso, a fim de assegurar a clareza, é adequado alinhar a atual definição do aditivo «rebaudiósido M produzido através da modificação enzimática de glicosídeos de esteviol obtidos de estévia» na entrada E 960c(i) do anexo do Regulamento (UE) n.º 231/2012 com a redação das conclusões da Autoridade sobre a segurança do seu processo de fabrico no que se refere à ausência de células viáveis e de ADN residual das leveduras *K. phaffii* UGT-a e *K. phaffii* UGT-b no aditivo alimentar.
- (11) O Regulamento (UE) n.º 231/2012 deve, por conseguinte, ser alterado em conformidade.
- (12) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente dos Vegetais, Animais e Alimentos para Consumo Humano e Animal,

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

O anexo do Regulamento (UE) n.º 231/2012 é alterado em conformidade com o anexo do presente regulamento.

Artigo 2.º

O presente regulamento entra em vigor no vigésimo dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

⁽⁴⁾ *EFSA Journal* 2021;19(7):6691, 22 pp.

⁽⁵⁾ *EFSA Journal* 2020;18 (4):6106, 32 pp.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 10 de outubro de 2022.

Pela Comissão
A Presidente
Ursula VON DER LEYEN

ANEXO

O anexo do Regulamento (UE) n.º 231/2012 é alterado do seguinte modo:

- 1) Na entrada relativa ao aditivo E 960c(i) Rebaudiósido M produzido através da modificação enzimática de glicosídeos de esteviol obtidos de estévia, na linha «Definição», a última frase passa a ter a seguinte redação:

«Células viáveis das leveduras *K. phaffii* UGT-a e *K. phaffii* UGT-b e o seu ADN não devem ser detetados no aditivo alimentar.»;

- 2) Após a entrada relativa ao E 960c(i), são inseridas as seguintes entradas:

«E 960c(ii) REBAUDIÓSIDO M PRODUZIDO ATRAVÉS DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DE EXTRATOS ALTAMENTE PURIFICADOS DE REBAUDIÓSIDO A OBTIDOS DE FOLHAS DE ESTÉVIA

Sinónimos			
Definição	<p>O rebaudiósido M produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados de rebaudiósido A obtidos de folhas de estévia é um glicosídeo de esteviol composto predominantemente por rebaudiósido M com pequenas quantidades de outros glicosídeos de esteviol, como o rebaudiósido A e o rebaudiósido D.</p> <p>O rebaudiósido M é produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados do glicosídeo de esteviol rebaudiósido A (95 % de glicosídeos de esteviol) obtidos da planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni utilizando as enzimas UDP-glucosiltransferase e sacarose sintase produzidas pelas estirpes geneticamente modificadas de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401), que facilitam a transferência de glucose a partir de sacarose e de UDP-glucose para glicosídeos de esteviol através de ligações glicosídicas. Após remoção das enzimas por separação sólido-líquido e tratamento térmico, a purificação envolve a concentração do rebaudiósido M por adsorção em resina, seguida de recristalização dos glicosídeos de esteviol de que resulte um produto final que contenha, pelo menos, 95 % de rebaudiósido M. Células viáveis <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) ou o seu ADN não devem ser detetadas no aditivo alimentar.</p>		
Denominação química	Rebaudiósido M: éster de 2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo do ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]caur-16-en-18-oico		
Fórmula molecular	Nome comum	Fórmula	Fator de conversão
	Rebaudiósido M	C ₅₆ H ₉₀ O ₃₃	0,25
Massa molecular e n.º CAS	Nome comum	Número CAS	Massa molecular (g/mol)
	Rebaudiósido M	1220616-44-3	1 291,29
Composição	Teor não inferior a 95 % de rebaudiósido M, numa base seca.		
Descrição	Produto pulverulento, de cor branca a amarela clara, cerca de 150 a 350 vezes mais doce do que a sacarose (equivalente à sacarose a 5 %).		
Identificação			
Solubilidade	Muito solúvel a ligeiramente solúvel em água		
pH	Entre 4,5 e 7,0 (solução 1:100)		
Pureza			
Cinzas totais	Teor não superior a 1 %		
Perda por secagem	Não superior a 6 % (105 °C, durante 2 horas)		

Solventes residuais	Teor de etanol não superior a 5 000 mg/kg
Arsénio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Chumbo	Teor não superior a 0,2 mg/kg
Cádmio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Mercúrio	Teor não superior a 0,07 mg/kg
Proteínas residuais	Teor não superior a 5 mg/kg
Granulometria	Não inferior a 74 µm [utilizando um crivo de malha #200 com um limite de dimensão das partículas de 74 µm]

E 960c(iii) REBAUDIÓSIDO D PRODUZIDO ATRAVÉS DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DE EXTRATOS ALTAMENTE PURIFICADOS DE REBAUDIÓSIDO A OBTIDOS DE FOLHAS DE ESTÉVIA

Sinónimos										
Definição	<p>O rebaudiósido D produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados de rebaudiósido A obtidos de folhas de estévia é um glicosídeo de esteviol composto predominantemente por rebaudiósido D com pequenas quantidades de outros glicosídeos de esteviol, como o rebaudiósido A e o rebaudiósido M.</p> <p>O rebaudiósido D é produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados do glicosídeo de esteviol rebaudiósido A (95 % de glicosídeos de esteviol) obtidos da planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni utilizando as enzimas UDP-glucosiltransferase e sacarose sintase produzidas pelas estirpes geneticamente modificadas de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401), que facilitam a transferência de glucose a partir de sacarose e de UDP-glucose para glicosídeos de esteviol através de ligações glicosídicas. Após remoção das enzimas por separação sólido-líquido e tratamento térmico, a purificação envolve a concentração do rebaudiósido D por adsorção em resina, seguida de recristalização dos glicosídeos de esteviol de que resulte um produto final que contenha, pelo menos, 95 % de rebaudiósido D e rebaudiósido A. Células viáveis <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) ou o seu ADN não devem ser detetadas no aditivo alimentar.</p>									
Denominação química	<p>Rebaudiósido D: éster de 2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo do ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]caur-16-en-18-oico</p> <p>Rebaudiósido A: éster de β-D-glucopiranosilo do ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]caur-16-en-18-oico</p>									
Fórmula molecular	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome comum</th> <th>Fórmula</th> <th>Fator de conversão</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Rebaudiósido D</td> <td>C₅₀H₈₀O₂₈</td> <td>0,29</td> </tr> <tr> <td>Rebaudiósido A</td> <td>C₄₄H₇₀O₂₃</td> <td>0,33</td> </tr> </tbody> </table>	Nome comum	Fórmula	Fator de conversão	Rebaudiósido D	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	0,29	Rebaudiósido A	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	0,33
Nome comum	Fórmula	Fator de conversão								
Rebaudiósido D	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	0,29								
Rebaudiósido A	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	0,33								
Massa molecular e n.º CAS	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome comum</th> <th>Número CAS</th> <th>Massa molecular (g/mol)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Rebaudiósido D</td> <td>63279-13-0</td> <td>1 291,15</td> </tr> <tr> <td>Rebaudiósido A</td> <td>58543-16-1</td> <td>967,01</td> </tr> </tbody> </table>	Nome comum	Número CAS	Massa molecular (g/mol)	Rebaudiósido D	63279-13-0	1 291,15	Rebaudiósido A	58543-16-1	967,01
Nome comum	Número CAS	Massa molecular (g/mol)								
Rebaudiósido D	63279-13-0	1 291,15								
Rebaudiósido A	58543-16-1	967,01								
Composição	Teor não inferior a 95 % de rebaudiósidos D e A, numa base seca.									
Descrição	Produto pulverulento, de cor branca a amarela clara, cerca de 150 a 350 vezes mais doce do que a sacarose (equivalente à sacarose a 5 %).									

Identificação	
Solubilidade	Muito solúvel a ligeiramente solúvel em água
pH	Entre 4,5 e 7,0 (solução 1:100)
Pureza	
Cinzas totais	Teor não superior a 1 %
Perda por secagem	Não superior a 6 % (105 °C, durante 2 horas)
Solventes residuais	Teor de etanol não superior a 5 000 mg/kg
Arsénio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Chumbo	Teor não superior a 0,2 mg/kg
Cádmio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Mercúrio	Teor não superior a 0,07 mg/kg
Proteínas residuais	Teor não superior a 5 mg/kg
Granulometria	Não inferior a 74 µm [utilizando um crivo de malha #200 com um limite de dimensão das partículas de 74 µm]

E 960c(iv) REBAUDIÓSIDO AM PRODUZIDO ATRAVÉS DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DE EXTRATOS ALTAMENTE PURIFICADOS DE ESTEVIÓSIDO OBTIDOS DE FOLHAS DE ESTÉVIA

Sinónimos			
Definição	<p>O rebaudiósido AM produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados de esteviósido obtidos de folhas de estévia é um glicosídeo de esteviol composto predominantemente por rebaudiósido AM com pequenas quantidades de outros glicosídeos de esteviol, como o esteviósido e o rebaudiósido E.</p> <p>O rebaudiósido AM é produzido através da conversão enzimática de extratos altamente purificados do glicosídeo de esteviol esteviósido (95 % de glicosídeos de esteviol) obtidos da planta <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni utilizando as enzimas UDP-glucosiltransferase e sacarose sintase produzidas pelas estirpes geneticamente modificadas de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401), que facilitam a transferência de glucose a partir de sacarose e de UDP-glucose para glicosídeos de esteviol através de ligações glicosídicas. Após remoção das enzimas por separação sólido-líquido e tratamento térmico, a purificação envolve a concentração do rebaudiósido AM por adsorção em resina, seguida de recristalização dos glicosídeos de esteviol de que resulte um produto final que contenha, pelo menos, 95 % de rebaudiósido AM. Células viáveis de <i>E. coli</i> (pPM294, pFAF170 e pSK401) e o seu ADN não devem ser detetados no aditivo alimentar.</p>		
Denominação química	Rebaudiósido AM: éster de 2-O-β-D-glucopiranosil-3-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosilo do ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)oxi]caur-16-en-18-oico		
Fórmula molecular	Nome comum	Fórmula	Fator de conversão
	Rebaudiósido AM	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	0,29
Massa molecular e n.º CAS	Nome comum	Número CAS	Massa molecular (g/mol)
	Rebaudiósido AM	2222580-26-7	1 291,15
Composição	Teor não inferior a 95 % de rebaudiósido AM, numa base seca.		

Descrição	Produto pulverulento, de cor branca a amarela clara, cerca de 150 a 350 vezes mais doce do que a sacarose (equivalente à sacarose a 5 %).
Identificação	
Solubilidade	Muito solúvel a ligeiramente solúvel em água
pH	Entre 4,5 e 7,0 (solução 1:100)
Pureza	
Cinzas totais	Teor não superior a 1 %
Perda por secagem	Não superior a 6 % (105 °C, durante 2 horas)
Solventes residuais	Teor de etanol não superior a 5 000 mg/kg
Arsénio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Chumbo	Teor não superior a 0,2 mg/kg
Cádmio	Teor não superior a 0,015 mg/kg
Mercúrio	Teor não superior a 0,07 mg/kg
Proteínas residuais	Teor não superior a 5 mg/kg
Granulometria	Não inferior a 74 µm [utilizando um crivo de malha #200 com um limite de dimensão das partículas de 74 µm]»