

## ALLEGATO II

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

1) alla voce relativa a E 960 (Glicosidi dello steviolo), il titolo è sostituito dal seguente:

**«E 960a GLICOSIDI STEVOLICI DA STEVIA»;**

2) dopo la voce relativa a E 960, è inserita la nuova voce seguente:

**«E 960c (i) REBAUDIOSIDE M PRODOTTO MEDIANTE MODIFICAZIONE ENZIMATICA DEI GLICOSIDI STEVOLICI DA STEVIA**

<b>Sinonimi</b>			
<b>Definizione</b>	<p>Il rebaudioside M è un glicoside steviolico prevalentemente costituito da rebaudioside M con quantità minori di altri glicosidi steviolici quali rebaudioside A, rebaudioside B, rebaudioside D, rebaudioside I e stevioside.</p> <p>Il rebaudioside M è ottenuto mediante bioconversione enzimatica di estratti purificati di foglie di glicosidi steviolici (95 % di glicosidi steviolici) di <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni utilizzando gli enzimi UDP-glucosiltransferasi e saccarosio sintasi prodotti dai lieviti geneticamente modificati <i>K. phaffii</i> (precedentemente noto come <i>Pichia pastoris</i>) UGT-a e <i>K. phaffii</i> UGT-b, che facilitano il trasferimento del glucosio dal saccarosio e dall'UDP-glucosio ai glicosidi steviolici attraverso legami glicosidici.</p> <p>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 del rebaudioside M, risultante in un prodotto finale contenente non meno del 95 % di rebaudioside M. Nell'additivo alimentare non si devono rilevare cellule vitali dei lieviti <i>K. phaffii</i> UGT-a e <i>K. phaffii</i> UGT-b o il loro DNA.</p>		
Denominazione chimica	Rebaudioside M: 13-[(2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl- $\beta$ -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	1291,29
Tenore	Non meno del 95 % di rebaudioside M sulla sostanza secca.		
<b>Descrizione</b>	Polvere bianco-giallina. Potere dolcificante da 200 a 350 volte superiore a quello del saccarosio (saccarosio equivalente al 5 %).		
<b>Identificazione</b>			
Solubilità	Da solubile a debolmente solubile in acqua		
pH	Tra 4,5 e 7,0 (soluzione 1 a 100)		
<b>Purezza</b>			
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].