

Carne a base cellulare: una nuova frontiera della ricerca

*Federica Cheli, Gabriella Tedeschi, Davide Lanzoni, Tamil Selvi Sundaram,
Antonella Baldi, Carlotta Giromini **

CELL-BASED MEAT: A NEW FRONTIER FOR RESEARCH

ABSTRACT: The constant growth of the world's population has prompted agri-food production to investigate new protein alternatives. In this context, biotechnology, and in particular cellular agriculture, plays a key role in providing nutritious, safe, healthy and sustainable products. However, there are many doubts concerning the production, safety and sustainability of cell-based products. For this reason, the aim of this chapter has been to analyse each stage of the production chain, identifying and discussing the main critical points and investigating omics techniques as a tool for obtaining cellular products. Finally, the sustainability of this new production was analysed.

KEYWORDS: Cellular agriculture; cultured meat; safety; sustainability; omic techniques

ABSTRACT: La crescita costante della popolazione mondiale ha spinto la produzione agro-alimentare ad investigare nuove alternative proteiche. In questo contesto, le biotecnologie, ed in particolare l'agricoltura cellulare, ricoprono un ruolo fondamentale nel fornire prodotti nutrienti, sicuri, sani e sostenibili. Tuttavia, sono molteplici i dubbi relativi alla produzione, sicurezza e sostenibilità dei prodotti a base cellulare. Per tale ragione, l'obiettivo di questo contributo è stato quello di analizzare ciascuna fase della

* *Federica Cheli, Professore Ordinario, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano; CRC "Innovation for Well-Being and Environment (I-WE)", Università degli Studi di Milano. Mail: federica.cheli@unimi.it; Gabriella Tedeschi, Professore Ordinario, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano; CRC "Innovation for Well-Being and Environment (I-WE)", Università degli Studi di Milano. Mail: gabriella.tedeschi@unimi.it; Davide Lanzoni (corresponding author), Dottorando di ricerca, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano. Mail: davide.lanzoni@unimi.it; Tamil Selvi Sundaram, RTD/A ONFOODS, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano. Mail: tamil.sundaram@unimi.it; Antonella Baldi, Professore Ordinario, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano. Mail: antonella.baldi@unimi.it; Carlotta Giromini, Professore Associato, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano; CRC "Innovation for Well-Being and Environment (I-WE)", Università degli Studi di Milano; Institute for Food, Nutrition and Health, University of Reading, Reading RG6 5EU, UK. Mail: carlotta.giromini@unimi.it. Il presente lavoro è frutto delle attività di ricerca svolte all'interno dei seguenti progetti: Progetto PRIN 2022 "The future of food, the food of the future. Novel food, innovation, sustainability and legal issues", 2022EPRMH9, finanziato dall'Unione europea – NextGeneration EU; Progetto PRIN 2022 "Cellular agriculture for sustainable and innovative food production - "CELLtoFOOD" Prot. 20229S4T77; Progetto finanziato dall'Unione Europea - NextGenerationEU – (PNRR) - Missione 4 Componente 2 Investimento 1.3 – Avviso N. 341 del 15 marzo 2022 del Ministero dell'Università e della Ricerca, Codice progetto PE00000003, Decreto Direttoriale MUR n. 1550 dell'11 ottobre 2022 di concessione del finanziamento, CUP D93C22000890001, titolo progetto "ON Foods - Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security – Working ON Foods". Contributo sottoposto a referaggio anonimo.*

filiera produttiva, identificando e discutendo i principali punti critici e approfondendo le tecniche omiche come strumento finalizzato all'ottenimento di prodotti cellulari. Infine, è stata analizzata la sostenibilità di questa nuova produzione.

PAROLE CHIAVE: Agricoltura cellulare; carne coltivata; sicurezza; sostenibilità; tecniche omiche

Sommario: 1. Introduzione – 2. Processo produttivo della carne coltivata – 3. Sicurezza della filiera della carne coltivata – 4. Profilo nutrizionale e funzionale della carne coltivata – 5. Scienze omiche applicate allo studio della carne coltivata – 6. Sostenibilità della carne coltivata – 7. Conclusioni.

1. Introduzione

L'elevato impatto ambientale dell'odierno sistema alimentare sta attirando crescente attenzione da parte della comunità scientifica. Esso è considerato uno dei principali attori coinvolti nella deplezione di risorse, nell'elevato consumo di suolo, nell'eutrofizzazione globale di oceani e acque dolci e nel continuo e rapido aumento di gas ad effetto serra¹. Tale scenario, considerando la costante crescita della popolazione mondiale, destinata a raggiungere 9-11 miliardi di persone entro il 2050, è destinato a peggiorare². Parallelamente, si assisterà ad un incremento di beni di prima necessità, in particolare quelli di origine animale. Più precisamente, la domanda globale di carne raggiungerà quota 455 milioni di tonnellate entro il 2050, un incremento del 76% rispetto ai dati riportati nel 2005³. Alla luce di quanto riportato, è comprensibile capire quali siano le ragioni che hanno spinto la comunità scientifica ad investigare nuove alternative in grado di sostenere tali ritmi di crescita vertiginosi. Tra le varie alternative, la carne coltivata rappresenta una possibile soluzione. Quest'ultima, parte del più ampio ramo dell'agricoltura cellulare, rappresenta la produzione *in vitro* di carne senza il sacrificio dell'animale, il cui obiettivo è quello di produrre beni alimentari molecularmente identici a quelli tradizionali⁴. Ad oggi, il tema della carne coltivata è altamente dibattuto, dividendo l'opinione pubblica sulla fattibilità del processo di produzione, sulla sicurezza e sostenibilità dell'intera filiera produttiva⁵.

¹ SI V. E. LINDGREN et al., *Sustainable food systems—a health perspective*, in *Sustainability science*, 13, 2018, 1505-1517 e T.G. BENTON et al., *Food system impacts on biodiversity loss. Three levers for food system transformation in support of nature*, in *Chatham House, London*, 02-03, reperibile al sito <https://www.chathamhouse.org/2021/02/food-system-impacts-biodiversity-loss>.

² E. RÖÖS et al., *Greedy or needy? Land use and climate impacts of food in 2050 under different livestock future*, in *Global Environmental Change*, 47, 2017, 1-12.

³ C. BELLET, J. RUSHTON, *World food security, globalisation and animal farming: Unlocking dominant paradigms of animal health science*, in *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 38, 2019 383-393 e N.R. RUBIO, N. XIANG, D.L. KAPLAN, *Plant-based and cell-based approaches to meat production*, in *Nature communications*, 11, 1, 2020, 1-11.

⁴ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges related to cultured meat production*, in *Applied Sciences*, 12, 13, 2022, 6771.

⁵ Per il parimenti importante e complesso dibattito regolatorio, si rinvia al contributo di Giulia Formici, nel presente *Focus On*.

2. Processo produttivo della carne coltivata

Come riportato nella Figura 1, il processo produttivo della carne coltivata comprende molteplici passaggi, brevemente riassumibili come di seguito descritto.

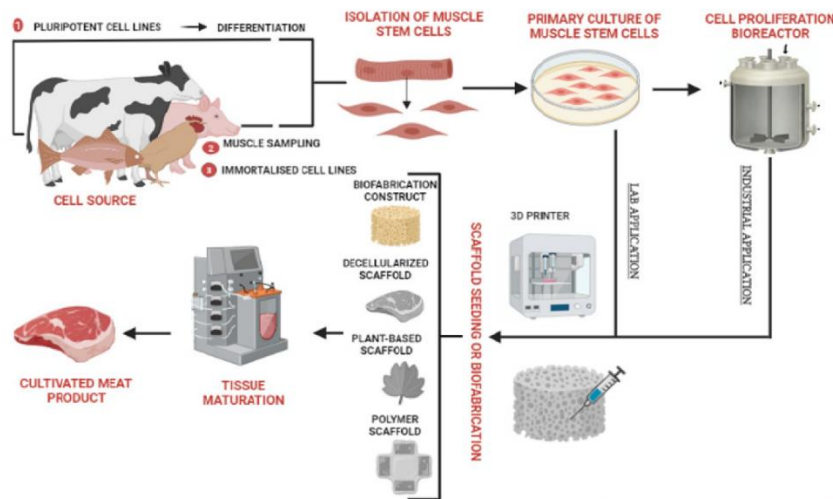


Figura 1. Processo produttivo della carne coltivata⁶

- **Prelievo cellulare:** Il punto di inizio della produzione della carne coltivata è rappresentato dal prelievo cellulare. Oltre al possibile utilizzo futuro di linee cellulari immortali e cellule pluripotenti, quali cellule staminali embrionali o cellule staminali pluripotenti indotte, il metodo di ottenimento maggiormente utilizzato e promosso dall'agricoltura cellulare è sicuramente il prelievo cellulare e/o tissutale da un animale vivo⁶. Sebbene le cellule ottenute in questo modo siano contraddistinte da un numero finito e limitato di divisioni prima di raggiungere la senescenza, esse permettono di studiare fedelmente i meccanismi di produzione della carne coltivata su scale temporali molto brevi⁷. Tuttavia, lavorare con biopsie tissutali comporta una fase aggiuntiva; l'isolamento delle singole cellule staminali muscolari (cellule satellite) dal resto delle fibre. Tale processo avviene, sfruttando proteasi in grado di garantire una selezione efficiente⁸.
- **Proliferazione:** In seguito al prelievo cellulare, è fondamentale assicurare alle cellule un ambiente adatto per la loro crescita e proliferazione, garantito dai terreni di coltura, contraddistinti dalla presenza di glucosio, sali inorganici, aminoacidi, vitamine, fattori di crescita e antibiotici⁹. Come riportato dagli stessi autori, altre sostanze quali proteine o pigmenti possono essere addizionate al terreno di coltura per conferire proprietà organolettiche simili a quelle della carne tradizionale. In scala laboratoriale, le cellule vengono fatte crescere bidimensionalmente in fiasche. Tuttavia, per un'applicazione in larga scala, come

⁶ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit. e REISS, S. ROBERTSON, M. SUZUKI, *Cell sources for cultivated meat: applications and considerations throughout the production workflow*, in *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 14, 2021, 7513.

⁷ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

⁸ K.H. CHOI et al., *Muscle stem cell isolation and in vitro culture for meat production: A methodological review*, in *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20, 1, 2021, 429-457.

⁹ K.J. ONG et al., *Food safety considerations and research priorities for the cultured meat and seafood industry*, in *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 6, 2021, 5421-5448.

quella industriale, è necessario utilizzare i bioreattori con l'obiettivo di aumentare la resa cellulare ottimizzando i consumi di energie e di risorse¹⁰.

- **Scaffolding:** Gli scaffolds sono strutture tridimensionali contraddistinti da una corretta porosità, specifiche proprietà meccaniche e chimiche fondamentali non solo per l'adesione, la proliferazione, il differenziamento e la maturazione delle cellule, ma attivamente coinvolti nella determinazione delle proprietà organolettiche del prodotto finale¹¹. Essi possono essere ottenuti o tramite la decellularizzazione di tessuti e organi o essere fabbricati, rispettando i requisiti di biodegradabilità e commestibilità. Sebbene, ad oggi esista anche il processo di "biofabbricazione" (creazione di costrutti utilizzando materiali contenenti cellule), l'approccio tradizionale maggiormente utilizzato nel ramo dell'agricoltura cellulare, prevede la previa fabbricazione di scaffolds e la successiva semina di cellule in una coltura 3D¹².
- **Differenziamento:** In seguito alla proliferazione, le cellule affrontano il differenziamento, conosciuto con il termine di miogenesi, ossia il passaggio da mioblasti a miociti, cellule muscolari adulte¹³. Per raggiungere questa fase è necessario fornire stimoli meccanici, chimici ed elettrici attraverso sistemi di coltura dedicati e scaffold modificati. Tale passaggio avviene all'interno di bioreattori assicurando un controllo preciso di variabili come temperatura, ossigeno, pH e densità cellulare¹⁴.
- **Maturazione:** In seguito alla proliferazione e differenziamento, prima di raggiungere lo stadio finale, le cellule sono soggette al fenomeno della maturazione. Essa avviene all'interno di bioreattori dove vengono forniti impulsi elettrici e meccanici, oltre a fattori di crescita, necessari per il suo raggiungimento¹⁵. La maturazione rappresenta un punto critico per la buona realizzazione dell'intero processo, permettendo di ottenere 1 kg di proteina da un numero di cellule di partenza compreso tra 2.9×10^{16} a 8×10^{17} .

3. Sicurezza della filiera della carne coltivata

I punti critici e la sicurezza nella filiera di produzione dei prodotti *in vitro* meritano ulteriori approfondimenti¹⁸. Più precisamente, i sostenitori della carne coltivata la considerano un prodotto maggiormente sicuro di quello tradizionale, in quanto creato in un ambiente controllato e chiuso. Sebbene questo sia vero per una produzione di nicchia, va sottolineato che su larga scala, tale alimento verrà prodotto a livello industriale, dove risulterebbe difficile eliminare completamente i possibili rischi, soprattutto quelli dovuti ad errori

¹⁰ M.S. MORITZ, S.E. VERBRUGGEN, M.J. POST, *Alternatives for large-scale production of cultured beef: A review*, in *Journal of Integrative Agriculture*, 14, 2, 2015, 208-216.

¹¹ J.S.H. SEAH, *Scaffolds for the manufacture of cultured meat*, in *Critical reviews in biotechnology*, 42, 2, 2022, 311-323.

¹² K.J. ONG et al., *op. cit.*

¹³ R.J. BRYSON-RICHARDSON, P.D. CURRIE, *The genetics of vertebrate myogenesis*, in *Nature Reviews Genetics*, 9, 8, 2009, 632-646.

¹⁴ J. ROSSER, D.J. THOMAS, *Bioreactor processes for maturation of 3D bioprinted tissue*, in *3D bioprinting for reconstructive surgery*, 2018, 191-215 e D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

¹⁵ S. RAMANI et al., *Technical requirements for cultured meat production: a review*, in *Journal of Animal Science and Technology*, 63, 4, 2021, 681.

¹⁶ J.S.H. SEAH, *op. cit.*

¹⁷ R.J. BRYSON-RICHARDSON, P.D. CURRIE, *op. cit.* e D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

¹⁸ S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *The myth of cultured meat: a review*, in *Frontiers in nutrition*, 7, 2020, 507645.

umani¹⁹. Sicuramente per prevenire errori accidentali, sarà necessario istituire nuovi percorsi di ricerca e competenze in grado di assicurare alti livelli di conoscenza²⁰. Parallelamente, come riportato nella Figura 2, sarà fondamentale tenere in considerazione tutti i possibili punti critici riscontrabili in ogni fase della filiera produttiva per poter garantire un prodotto salubre al consumatore.

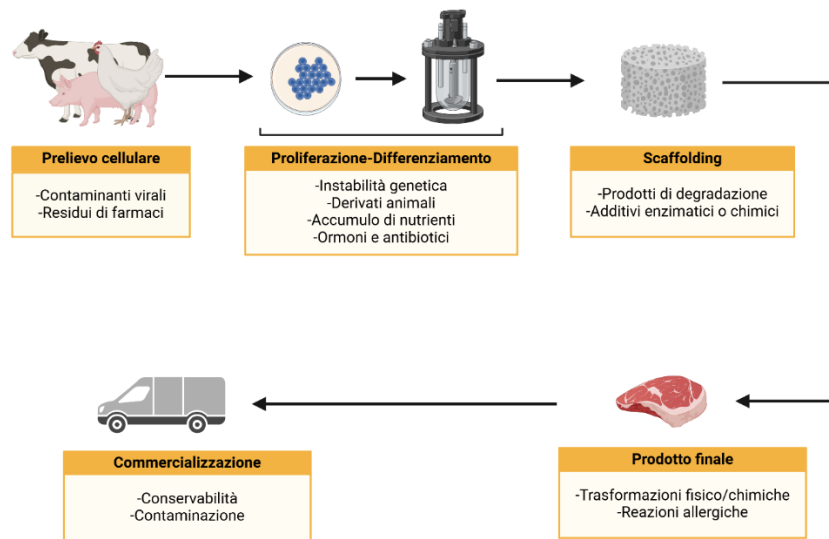


Figura 2. Descrizione di tutti i punti critici della catena di produzione della carne coltivata¹⁶.

- **Prelievo cellulare:** La scelta dell'animale non deve essere casuale, ma deve tenere in considerazione molteplici fattori tra cui, età, sesso, condizioni di stabulazione e patrimonio genetico²¹. Più precisamente, durante l'invecchiamento dell'animale, oltre ad una diminuzione fisiologica della concentrazione di cellule satelliti, quest'ultime devono affrontare continue divisioni mitotiche che comportano una riduzione della loro capacità differenziativa²². Parallelamente, animali di sesso maschile, grazie all'azione positiva del testosterone, sono contraddistinti da un maggior quantitativo di cellule staminali. Tale differenza è dimostrata anche tra animali allevati in condizioni estensive ed intensive, probabilmente a causa delle diverse tipologie di dieta²³. Ovviamente oltre a questi fattori, è fondamentale considerare lo stato di salute dell'animale evitando in questo modo la potenziale introduzione di rischi biologici nel prodotto coltivato, in particolare la trasmissione e diffusione di malattie virali infettive a carattere zoonotico²⁴.

¹⁹ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union: Legislative context and food safety issues*, in *Current Research in Food Science*, 100722, 2024.

²⁰ N.R. JAHIR et al., *Cultured meat in cellular agriculture: advantages, applications and challenges*, in *Food Bioscience*, 53, 2023, 102614.

²¹ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

²² Si v. N. STEPHENS et al., *Bringing cultured meat to market: Technical, socio-political, and regulatory challenges in cellular agriculture*, in *Trends in food science & technology*, 78, 2018, 155-166 e L. MELZENER, *Cultured beef: from small biopsy to substantial quantity*, in *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 1, 2021, 7-14.

²³ K.H. CHOI et al., *op. cit.* e D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

²⁴ K.J. ONG et al., *op. cit.*

Sebbene quest'ultimo punto rappresenti un punto delicato per la sicurezza del consumatore, è necessario sottolineare come, oltre al fatto che non è sicura la sopravvivenza in coltura di cellule infette, questo rischio può essere facilmente circoscritto tramite una rigorosa ispezione degli animali di origine e delle cellule/tessuti per verificare la presenza di segni di infezione²⁵. Un altro possibile rischio in questa fase riguarda la contaminazione da farmaci veterinari, compresi gli antibiotici. Questi possono essere presenti come contaminanti nel tessuto utilizzato per la raccolta delle cellule e potenzialmente presenti nel prodotto finale, causando effetti negativi sulla salute umana. Tuttavia, perché ciò avvenga, il farmaco deve essere presente prima nel tessuto campionato e poi nella coltura cellulare durante tutto il ciclo di produzione, raggiungendo così il prodotto finale a una concentrazione che supera il livello massimo di sicurezza. Tuttavia, anche in questo caso, tale rischio può essere facilmente monitorato sia utilizzando test per la quantificazione dei farmaci veterinari sia sulla linea cellulare che sul prodotto finale, ma soprattutto consultando i dati sanitari degli animali di origine al momento della biopsia del tessuto²⁶.

- Proliferazione e differenziamento: I principali rischi in queste fasi sono da ricollegare non solo all'elevata capacità proliferativa delle cellule, ma soprattutto ai costituenti dei terreni di coltura²⁷. Nel primo caso, come precedentemente riportato, il numero di cellule necessarie per produrre 1 kg di proteina da cellule muscolari è compreso tra 2.9×10^{28} e 8×10^{29} . Per poter raggiungere numeri così elevati, le cellule devono affrontare numerosi cicli di divisione. Tuttavia, questo potrebbe portare alla formazione di cellule cancerogene all'interno delle colture a causa dell'instabilità genetica, senza essere chiaramente identificate³⁰. Sebbene tali cellule siano innocue, in quanto morte al momento del consumo del prodotto coltivato, rappresentano una grande sfida per l'accettazione da parte del consumatore. Nel secondo caso, sebbene i nutrienti dei terreni di coltura siano comunemente presenti negli alimenti convenzionali, un potenziale problema di sicurezza alimentare si verificherebbe se una o più di queste sostanze fossero presenti nel prodotto finale in concentrazione pericolose per il consumatore, in seguito ad un accumulo anomalo³¹. Per prevenire questo possibile rischio, esistono diversi controlli, tra cui: I) utilizzo di livelli minimi di nutrienti che permettano comunque la crescita cellulare, II) monitoraggio costante dei parametri cellulari (ad esempio vitalità e morfologia), III) analisi chimica del prodotto cellulare finale per identificare i nutrienti presenti, per cui i livelli massimi di sicurezza relativi all'assunzione sono già noti per gli alimenti tradizionali³². Per proliferare, le cellule necessitano anche di componenti secondari essenziali per la loro vitalità, replicazione e differenziamento. Tra questi, siero animale, proteine, peptidi, acidi nucleici, fattori di crescita ed ormoni³³. Sicuramente, ad oggi, la sfida più grande nella produzione di carne in coltura è quella di trovare un sostituto del siero animale, in particolare del siero fetale bovino (FBS), che possa replicarne le caratteristiche garantendo al contempo l'eticità. Il siero fetale bovino è una miscela complessa di acidi grassi, lipidi, vitamine, carboidrati, sali inorganici, fattori di crescita, proteine e oltre 400

²⁵ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

²⁶ World Health Organization, *Food safety aspects of cell-based food*, 2023.

²⁷ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

²⁸ J.S.H. SEAH, *op. cit.*

²⁹ R.J. BRYSON-RICHARDSON, P.D. CURRIE, *op. cit.* e D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

³⁰ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

³¹ World Health Organization, *Food safety aspects of cell-based food*, cit.

³² *Ibidem*.

³³ *Ibidem*.

metaboliti, essenziali per l'adesione, la crescita e la proliferazione cellulare³⁴. Nonostante questi numerosi aspetti positivi, la produzione di FBS si scontra con l'eticità promossa dall'agricoltura cellulare, in quanto viene prelevato tramite puntura cardiaca da feti di età fino a tre mesi di vacche mandate al macello³⁵. La quantità esatta di FBS prodotta e venduta in tutto il mondo è sconosciuta. Tuttavia, si stima che ogni anno vengano venduti circa 800.000 litri di FBS, che corrispondono a circa due milioni di feti sacrificati³⁶. Questi dati spiegano perché il suo utilizzo per la produzione di carne tradizionale, oltre a non essere etico, sarebbe in ogni caso insostenibile nel lungo periodo. Sebbene le aziende abbiano già trovato un valido sostituto della FBS (protetto da brevetto)³⁷, la ricerca scientifica sta studiando diversi sostituti etici. Parallelamente, l'aggiunta di proteine, peptidi ma anche fattori di crescita di origine animale, sebbene essenziali per sostenere la crescita cellulare, può introdurre contaminazioni virali o da prioni³⁸. Tuttavia, gli stessi autori suggeriscono come questo problema possa essere facilmente arginato utilizzando terreni di coltura privi di derivati animali, limitando così l'introduzione di organismi patogeni. Particolare attenzione deve essere prestata all'uso degli ormoni. Il loro consumo eccessivo può portare a squilibri e a esiti negativi per la salute umana, tra cui effetti pro-cancerogeni e tossicità riproduttiva³⁹. Per questo motivo, già nel 1996 (Direttiva 96/22 CE del Consiglio dell'aprile 1996), l'Unione Europea ha regolamentato l'uso degli ormoni nella catena alimentare tradizionale, vietando l'uso di alcune sostanze ormonali come testosterone, progesterone, zeranolo, acetato di trenbolone, acetato di melengestrolone ed estradiolo-17 β , in quanto possono rimanere come residui nella carne degli animali trattati dopo la loro macellazione⁴⁰. Possibili soluzioni, potrebbero essere l'uso di queste sostanze a concentrazioni minime che permettano comunque di ottenere l'effetto desiderato, l'utilizzo di fasi di lavaggio del prodotto e infine l'attuazione di misure di sicurezza e di controllo della qualità⁴¹. Un altro problema legato alla fase di proliferazione cellulare riguarda l'uso di antibiotici nel terreno di coltura per evitare qualsiasi contaminazione. Sebbene il laboratorio sia un ambiente controllato con un attento monitoraggio, è difficile prevenire qualsiasi segno di infezione, per questo motivo vengono aggiunti al terreno di coltura. Tuttavia, va sottolineato che questi all'interno delle colture cellulari saranno addizionati (quando necessario) a concentrazioni inferiori rispetto a quelle utilizzate nell'allevamento tradizionale e utilizzati quasi esclusivamente nelle prime fasi della produzione, dove le cellule saranno poi risciacquate e purificate, riducendo la possibilità di trovarli nel prodotto finale, senza la possibilità di causare reazioni allergiche⁴². Allo stesso tempo, un altro

³⁴ D. LANZONI et al., *Biotechnological and technical challenges*, cit.

³⁵ D. BRUNNER et al., *The serum-free media interactive online database*, in *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 27(1), 2010, 53-62.

³⁶ K.S. CHELLADURAI et al., *Alternative to FBS in animal cell culture-An overview and future perspective*, in *Heliyon*, 7, 8, 2021.

³⁷ S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

³⁸ D.W. JAYME, S.R. SMITH, *Media formulation options and manufacturing process controls to safeguard against introduction of animal origin contaminants in animal cell culture*, in *Cytotechnology*, 33, 1, 2000, 27-36.

³⁹ S.H. JEONG et al., *Risk assessment of growth hormones and antimicrobial residues in meat*, in *Toxicological research*, 26, 2010, 301-313.

⁴⁰ European Commission, Council Directive 96/22/EC of 29 April 1996 Concerning the Prohibition on the Use in Stock-farming of Certain Substances Having a Hormonal or Thyrostatic Action and of Beta-Agonists, and Repealing Directives 81/602/EEC, 88/146/EEC and 88/299/EEC. Si v. anche K.J. ONG et al., *op. cit.*

⁴¹ World Health Organization, *Food safety aspects of cell-based food*, cit.

⁴² K.J. ONG et al., *op. cit.*

possibile problema riguarda lo sviluppo di resistenza ai farmaci nelle cellule utilizzate. Per prevenire questo fenomeno, una possibile soluzione potrebbe essere la sostituzione degli antibiotici con peptidi antimicrobici naturali o sintetici, che non costituiscono un fattore di stress né creano resistenza ai farmaci⁴³. Tuttavia, sarà necessario documentare e registrare l'uso di antibiotici o di un sostituto, il tipo e la concentrazione, aumentando i controlli per la sicurezza della salute umana⁴⁴.

- **Scaffolding:** Come precedentemente riportato, gli scaffolds possono essere biodegradabili o commestibili. Tuttavia, a seconda della loro natura possono sorgere diversi problemi di sicurezza per il consumatore. Se l'impalcatura è progettata per degradarsi, è necessaria una attenta valutazione del materiale utilizzato e dei relativi prodotti di degradazione affinché siano adatti e sicuri per il consumo umano⁴⁵. Laddove, l'impalcatura non è progettata per degradarsi, ma è necessario agire tramite dissociazione chimica o enzimatica è doveroso approfondire gli additivi utilizzati e valutare la loro presenza nel prodotto finale⁴⁶.
- **Prodotto finale:** Considerando il prodotto finale è importante valutare le trasformazioni fisico-chimiche che possono innescarsi nel prodotto finale. Tali trasformazioni si verificano quando i componenti presenti all'interno dei prodotti interagiscono con altre sostanze causando cambiamenti nella struttura comportando la comparsa indesiderata di specie dannose per la salute umana⁴⁷. Queste modifiche possono essere causate o durante la sterilizzazione nei processi produttivi (irradiazione) o durante la lavorazione degli alimenti come i trattamenti termici e chimici⁴⁸. In quest'ultimo caso, è importante evidenziare come le alte temperature raggiunte durante la cottura di alimenti proteici, tra cui la carne coltivata, potrebbe portare alla produzione di sostanze nocive come le ammine aromatiche eterocicliche, gli idrocarburi policiclici aromatici e la glicazione avanzata, prodotti finali della reazione di Maillard⁴⁹. Tuttavia, sebbene ad oggi non vi sia alcuna conferma che ciò possa verificarsi anche nelle carni coltivate, la ricerca scientifica ha raramente segnalato la presenza di sostanze chimicamente pericolose negli analoghi della carne, questi ultimi strutturati in modo da assomigliare alla struttura tipica della carne convenzionale²⁶. Parallelamente, altro aspetto fondamentale da considerare nel prodotto finale riguarda le possibili reazioni allergiche, specie verso quegli ingredienti (materiali strutturali, sostanze nutritive di supporto e modulatori delle funzioni cellulari) introdotti durante il processo di produzione, la cui reazione avversa non è ancora nota^{26,50}.
- **Commercializzazione:** Essa rappresenta l'ultima fase della filiera di produzione. Se per le carni tradizionali, la ricerca scientifica ha studiato adeguate strategie per incrementare la conservabilità, per quelle coltivate è ancora in fase iniziale. Tuttavia, la carne coltivata, essendo preparata in condizioni di sterilità potrebbe avere un periodo di conservazione più lungo rispetto a quella tradizionale, riducendo parallelamente i

⁴³ S. RAMANI et al., *op. cit.*

⁴⁴ World Health Organization, *Food safety aspects of cell-based food*, cit. e K.J. ONG et al., *op. cit.*

⁴⁵ K.J. ONG et al., *op. cit.*

⁴⁶ N. STEPHENS et al., *op. cit.*

⁴⁷ World Health Organization, *Food safety aspects of cell-based food*, cit.

⁴⁸ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

⁴⁹ K. ZHANG et al., *Development of meat analogs: Focus on the current status and challenges of regulatory legislation*, in *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 22, 2, 2023, 1006-1029.

⁵⁰ J.L. BANACH et al., *Alternative proteins for meat and dairy replacers: Food safety and future trends*, in *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63, 32, 2023, 11063-11080.

costi di trasporto, di refrigerazione e prodotti di scarto⁵¹. Tali aspetti potrebbero essere favoriti anche dal fatto che i siti di produzione potrebbero essere localizzati più vicini al consumatore, rispetto ai grandi allevamenti⁵². Nonostante questo, è necessario approfondire strategie per limitare possibili rischi durante la commercializzazione, come la contaminazione batterica, agendo su materiali di qualità nella creazione di packaging appositi⁵³.

4. Profilo nutrizionale e funzionale della carne coltivata

Ad oggi, una delle principali sfide della carne coltivata è quella di dover replicare le proprietà organolettiche, nutrizionali e funzionali della carne tradizionale, aspetti fondamentali per la futura accettazione da parte del consumatore⁵⁴.

Le proprietà organolettiche comprendono la consistenza, colore e sapore.

- **Consistenza:** La consistenza della carne tradizionale è il risultato della “maturazione”. Tale processo che si verifica solamente in seguito alla morte dell’animale. Più precisamente, la mancanza di ossigeno porta all’accumulo di acido lattico con una conseguente decrescita dei valori del pH, in grado di attivare enzimi fondamentali per la rottura di proteine e il successivo intenerimento della carne. Ad oggi, a causa di ridotte informazioni a disposizione, è difficile confermare se questo possa verificarsi anche nella produzione *in vitro*⁵⁵. Tuttavia, questo non rappresenterebbe un problema nella creazione di prodotti quali hamburger o salsicce, dove la sovrapposizione di strati sottili di cellule possono replicarne la consistenza. Situazione diversa si verificherebbe per tagli interi, dove lo spessore, l’assenza di sangue, la limitata diffusione di nutrienti e ossigeno renderebbero complicato il raggiungimento della consistenza tradizionale³¹. Tuttavia, ad oggi, la ricerca scientifica sta vagliando diverse soluzioni, tra cui la più promettente, la co-coltura di mioblasti-fibroblasti-adipociti in grado di garantire la formazione del tessuto muscolare, connettivo e lipidico, rispettivamente⁵⁶.
- **Colore:** Il colore della carne tradizionale dipende principalmente da due parametri, quali ferro e mioglobina⁵⁷. Sebbene ad oggi, come evidenziato dagli stessi autori, le fibre muscolari prodotte *in vitro* siano contraddistinte da un colore giallo a causa delle ridotte concentrazioni di ferro nei principali terreni di coltura e perché in presenza di ossigeno, le cellule inibiscono la produzione di mioglobina, sono molteplici le soluzioni adottate dalla ricerca scientifica per ricalcare l’aspetto tradizionale. Tra queste, l’aggiunta di ferro disponibile per le cellule, la stimolazione di mioglobina tramite la riduzione della concentrazione di

⁵¹ K. GASTERATOS, *90 Reasons to consider cellular agriculture*, 2019, reperibile al sito: <http://nrs.harvard.edu/urn-3:HUL.InstRepos:38573490>.

⁵² H.L. TUOMISTO, M.J. TEIXEIRA DE MATTOS, *Environmental impacts of cultured meat production*, in *Environmental science & technology*, 45, 14, 2011, 6117-6123.

⁵³ S.A. SIDDIQUI et al., *Cultured meat: Processing, packaging, shelf life, and consumer acceptance*, in *LWT*, 172, 2022, 114192.

⁵⁴ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

⁵⁵ K. BROUCKE et al., *Cultured meat and challenges ahead: A review on nutritional, technofunctional and sensorial properties, safety and legislation*, in *Meat science*, 195, 2023, 109006.

⁵⁶ I. FRAEYE et al., *Sensorial and nutritional aspects of cultured meat in comparison to traditional meat: much to be inferred* in *Frontiers in nutrition*, 7, 2020, 35.

⁵⁷ M.J. POST, J.F. HOCQUETTE, *New sources of animal proteins: cultured meat*, in P.P. Purslow (ED.), *New aspects of meat quality. From genes to ethics*, Duxford, 2017, 425-441.

ossigeno e l'aggiunta di coloranti naturali direttamente nel prodotto finale, rappresentano soluzioni applicabili su larga scala⁵⁸.

- Sapore: Il sapore della carne tradizionale non è garantito solo dal muscolo, ma è il risultato dell'assunzione dell'alimentazione e del metabolismo biologico dell'animale. Tali fattori, uniti all'interazione di proteine, lipidi, carboidrati, nervi e vasi sanguigni sono responsabili del gusto tipico della carne tradizionale⁵⁹. Considerando la carne coltivata, è difficile comprendere come questi cambiamenti possano verificarsi in assenza della macellazione. Tuttavia, come riportato in letteratura, sono molteplici le soluzioni a disposizione⁶⁰. Tra queste, oltre ad intervenire direttamente sulle linee cellulari, prediligendo la co-coltura di cellule muscolari e adipociti per aumentare la frazione di grasso, fondamentale per l'aroma, succosità e tenerezza del prodotto finale, l'aggiunta di idrolizzati quali salsa di soia o soia sgrassata rappresenta una valida alternativa⁶¹. Più precisamente, tale opzione, impiegata nella creazione di prodotti vegetariani e vegani, permette l'ottenimento di sapori equivalenti, grazie alla capacità di liberare composti aromatici simili a quelli della carne tradizionali, in seguito alla loro cottura⁶².

Come anticipato, obiettivo principale dei prodotti *in vitro* è quello di ricalcare l'importante profilo nutrizionale della carne tradizionale, in particolare la presenza di micronutrienti, il contenuto proteico e lipidico.

- Micronutrienti: I principali micronutrienti presenti nella carne tradizionale, minerali (ferro, selenio e zinco) e vitamine (vitamina B₁₂), ricoprono un ruolo primario nel mantenimento della salute umana. Tuttavia, le cellule in coltura non sono in grado di sintetizzarli autonomamente. Per tale ragione, è fondamentale aggiungere nei terreni di coltura questi nutrienti associati a proteine di trasporto per stimolarne l'assorbimento da parte delle cellule⁶³. Sebbene tale pratica sia fattibile, occorre verificare se anche nei prodotti di coltura questi micronutrienti forniscano gli stessi effetti positivi per la salute umana⁶⁴.
- Contenuto lipidico: Come precedentemente riportato, le co-culture con cellule adipose consentirebbero un incremento del contenuto lipidico nella carne coltivata. Tuttavia, la carne tradizionale è contraddistinta da una elevata presenza di acidi grassi saturi (37g/100g), negativamente associati alle patologie cardiache⁶⁵. Per tale ragione, l'aggiunta della frazione di acidi grassi polinsaturi, riconosciuti per gli importati benefici per la salute umana, rappresenterebbe una valida opzione per la creazione di un prodotto funzionale e benefico per il consumatore⁶⁶.
- Contenuto proteico: Ad oggi, caratterizzare il profilo proteico dei futuri prodotti *in vitro* risulta complicato a causa delle informazioni limitate a disposizione. Sicuramente, l'obiettivo principale è quello di simulare l'elevato contenuto proteico della carne tradizionale (20-24 g /100 g)⁶⁷. Per raggiungere questo risultato,

⁵⁸ I. FRAEYE et al., *op. cit.*

⁵⁹ J.F. HOCQUETTE, *Is in vitro meat the solution for the future?*, in *Meat science*, 120, 2016, 167-176.

⁶⁰ K. BROUCKE et al., *op. cit.* e I. FRAEYE et al., *op. cit.*

⁶¹ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

⁶² G. ZHANG et al., *Challenges and possibilities for bio-manufacturing cultured meat*, in *Trends in Food Science & Technology*, 97, 2020, 443-450.

⁶³ K. BROUCKE et al., *op. cit.*

⁶⁴ S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

⁶⁵ P.C. CALDER, *Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future*, in *Proceedings of the Nutrition Society*, 77, 1, 2018, 52-72 e J.J. DINICOLANTONIO, S.C. LUCAN, J.H. O'KEEFE, *The evidence for saturated fat and for sugar related to coronary heart disease*, in *Progress in cardiovascular diseases*, 58, 5, 2016, 464-472.

⁶⁶ D. LANZONI et al., *Cultured meat in the European Union*, cit.

⁶⁷ L. THORREZ, H. VANDENBURGH, *Challenges in the quest for 'clean meat'*, in *Nature Biotechnology*, 37, 3, 2019, 215-216.

esistono molteplici approcci: I) Stimolazione elettrica per la sintesi dei sarcomeri. Tale metodo, sebbene efficiente, è contraddistinto da un costo elevato e perciò difficilmente impiegabile su larga scala⁶⁸. II) Incremento di amminoacidi liberi nel terreno di coltura con conseguente aumento del contenuto proteico. Sebbene tale alternativa risulti meno costosa, è doveroso approfondire i possibili cambiamenti subiti dai nutrienti in seguito all'internalizzazione. III) Creazione di scaffolds ricchi di amminoacidi essenziali. Tale approccio, oltre ad essere applicabile su larga scala grazie ai costi contenuti, permetterebbe di modulare il profilo amminoacidico dei prodotti coltivati, incrementando positivamente la frazione proteica⁶⁹.

5. Scienze omiche applicate allo studio della carne coltivata

Con il termine “scienze omiche” si intendono tutte quelle scienze che hanno come obiettivo principale quello di identificare, descrivere e quantificare tutte le biomolecole e i processi molecolari che contribuiscono alla forma e alla funzione di cellule e tessuti. Le tecnologie su cui si basano sono ad oggi una pietra angolare della moderna biotecnologia applicata all'agricoltura, offrendo uno sguardo approfondito sulle varie componenti molecolari e sui processi che compongono una cellula vivente. Esse comprendono una gamma di discipline e strumenti, ognuno dei quali si concentra su un aspetto diverso della cellula, come riportato nella Figura 3.

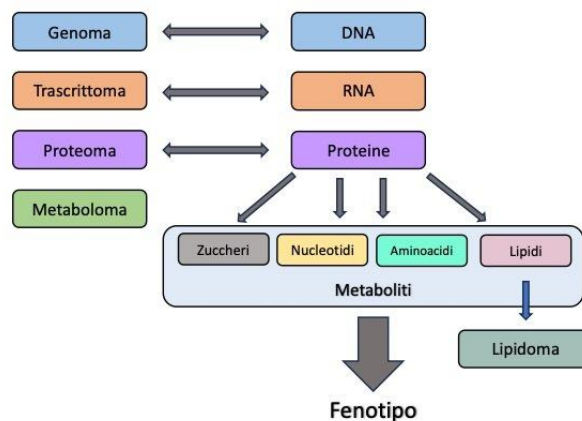


Figura 3. Schema delle scienze omiche applicate allo studio e alla caratterizzazione della carne coltivata

- Genomica: è lo studio dei genomi, che fornisce approfondimenti sulla sequenza completa del DNA degli organismi;
- Trascrittomica: concentrandosi sull'RNA (i messaggi codificati dal DNA nelle regioni codificanti dei genomi), rivela informazioni sui modelli di espressione genica;
- Proteomica: è l'esame dell'intero set di proteine tradotte dai messaggi dell'RNA, che è fondamentale per comprendere le funzioni cellulari, che in sostanza avvengono a livello del proteoma;
- Metabolomica: è l'analisi dell'intero set di metaboliti, che derivano in gran parte dal funzionamento degli enzimi e delle proteine in generale. Nell'ambito della metabolomica possono essere considerati anche molecole specifiche quali i lipidi, oggetto dello studio della lipidomica;

⁶⁸ L. THORREZ, H. VANDENBURGH, *op. cit.*

⁶⁹ K. BROUCKE et al., *op. cit.*

- Multiomica e biologia dei sistemi: è l'integrazione e la combinazione di queste tecnologie omiche, note collettivamente come multiomica, che consentono una visione completa dei sistemi biologici. Questo approccio è essenziale nella biologia dei sistemi, offrendoci un quadro dettagliato delle complessità delle funzioni cellulari e degli organismi.

L'applicazione di queste tecniche in campo alimentare ha portato nel 2009 a coniare il termine "Foodomics" per la disciplina che studia gli aspetti dell'alimentazione e della nutrizione attraverso l'applicazione e l'integrazione di tecnologie omiche avanzate per migliorare il benessere, la salute e la fiducia dei consumatori⁷⁰.

- Pertanto, uno studio approfondito dei processi di produzione della carne coltivata, dei relativi punti critici e della sicurezza nella filiera della sua produzione nonché nella caratterizzazione del suo profilo nutrizionale e funzionale non può non avvalersi di queste tecniche all'avanguardia caratterizzate da un alto grado di precisione e sensibilità⁷¹. Tra gli aspetti più importanti della loro applicazione si possono ricordare: garantire la stabilità genetica delle linee cellulari, l'ottimizzazione della crescita, la consistenza e la nutrizione mappando i modelli cellulari mediante la genomica; monitorare l'espressione genica in varie condizioni di coltura e ottimizzare i supporti di crescita per garantire una qualità del prodotto costante mediante la trascrittomica e la proteomica; analizzare i profili proteici per l'ottimizzazione del gusto, della consistenza e delle proprietà nutrizionali e caratterizzare le interazioni proteiche per una migliore formazione delle fibre muscolari mediante la proteomica; studiare i profili metabolici per comprendere la salute delle cellule, il tasso di crescita e l'utilizzo dei nutrienti nonché per regolare i terreni di coltura per una produzione efficiente di metaboliti mediante la metabolomica. Mentre mediante la lipidomica è possibile caratterizzare i profili lipidici per influenzare la distribuzione dei grassi e il processo di marmorizzazione che determinano la palatabilità dell'alimento e il suo gusto. In conclusione, si può sostenere che le scienze omiche vengono oggi ampiamente applicate in ogni step della filiera produttiva della carne coltivata a partire dallo sviluppo e ottimizzazione dei terreni di coltura e delle condizioni di crescita, all'analisi dei componenti nutritivi e della qualità del prodotto finale. Non si deve dimenticare anche l'importante contributo delle scienze omiche nel supportare aspetti legati alla conformità normativa per i prodotti a base di carne coltivata garantendo elevati standard di qualità del prodotto, di sicurezza della filiera produttiva e di tracciabilità dei materiali e dei processi impiegati. Le analisi mediante tecniche omiche possono garantire che i prodotti a base di carne coltivata soddisfino i requisiti di etichettatura nutrizionale e gli standard stabiliti dalle autorità di regolamentazione alimentare. Fornire informazioni nutrizionali accurate è anche essenziale per ottenere la fiducia e l'accettazione da parte dei consumatori, in particolare per coloro che hanno esigenze o preferenze alimentari specifiche.

6. Sostenibilità della carne coltivata

Come anticipato in precedenza, uno dei più grandi dubbi riguardo alla produzione di carne coltivata concerne la sua sostenibilità, specie qualora venisse impiegata su larga scala. I prodotti *in vitro* sono generalmente descritti come maggiormente sostenibili rispetto a quelli tradizionali. Tuttavia, tale confronto risulta

⁷⁰ A. CIFUENTES, *Foodomics, foodome and modern food analysis in TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 96, 2018, 1 e L.O. ROCHA, N.C.C. SILVA, *Application of omics-based technologies and the impact on food science*, in *Frontiers in Microbiology*, 14, 2023, 1155757.

⁷¹ A.J. TOMIYAMA et al., *Bridging the gap between the science of cultured meat and public perceptions*, in *Trends in Food Science & Technology*, 104, 2023, 144-152.

incompleto e non corretto a causa della mancanza di dati certi, ma solo proiezioni nel lungo periodo, difficilmente confrontabili con quelli certi della carne tradizionale⁷². Sicuramente, la produzione di carne coltivata richiederà un minor utilizzo di terreno⁷³. Tale dato ricopre fondamentale importanza se si considera che la produzione alimentare globale odierna utilizza circa il 38% della superficie globale e che il restante 62% risulta non adatto alla coltivazione a causa del clima, della topografia, della scarsa qualità del suolo, del processo di urbanizzazione o perché occupato da terreni naturali come foreste⁷⁴. Parallelamente, è ipotizzabile come la produzione *in vitro* richiederà un minor consumo di risorse idriche. Più precisamente, 1 kg di carne coltivata richiederà approssimativamente 50 litri di acqua (destinata quasi totalmente per la produzione di terreni di coltura); consumi decisamente inferiori se confrontati con quelli dei prodotti tradizionali (550-700 litri)⁷⁵. Tuttavia, è doveroso valutare la qualità dell'acqua risultante dalla lavorazione. I terreni di scarto, contraddistinti dalla presenza di fattori di crescita, ormoni e altre sostanze chimiche, rappresenterebbero una forte criticità per la sostenibilità ambientale⁷⁶. Ciò nonostante, la ricerca scientifica sta vagliando soluzioni *green* per un loro futuro impiego, soddisfacendo i requisiti di una economia circolare. Infine, rispetto all'allevamento convenzionale, sarà importante valutare l'impatto dell'anidride carbonica, principale gas serra prodotto nella produzione di carne in coltura, contraddistinta da un periodo di bioaccumulo più lungo rispetto al metano⁷⁷. Nonostante questo, prima di poter fare confronti diretti tra le due tipologie di produzione, sarà necessario aspettare che i prodotti coltivati raggiungeranno una larga scala di produzione.

7. Conclusioni

Sebbene la ricerca sulla carne coltivata sia recente, l'idea originale ha radici antiche. Apparve per la prima volta nel 1897 in un romanzo scientifico intitolato *Auf Zwei Planetem*, e poi in altri resoconti del secolo scorso⁷⁸. A partire dalla fine del XX secolo, prima con il primo brevetto del metodo di produzione di carne coltivata da parte di Willem van Eelen e poi con la coltivazione di carne di pesce rosso da parte della NASA, la carne coltivata iniziò a ricevere un interesse crescente⁷⁹. La popolarità della carne coltivata si è consolidata nel 2013 con la presentazione in diretta televisiva del primo hamburger coltivato da parte del ricercatore olandese Mark Post. Successivamente, come riportato dal numero di pubblicazioni scientifiche, le ricerche sull'agricoltura cellulare hanno iniziato ad aumentare in modo esponenziale fino alla commercializzazione del primo prodotto a base di carne coltivata nel dicembre 2020 a Singapore⁸⁰. Dalle evidenze emerse dalla ricerca, si può concludere che le carni coltivate potrebbero rappresentare una valida alternativa alle proteine

⁷² S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

⁷³ Y. HARAGUCHI, Y. OKAMOTO, T. SHIMIZU, *A circular cell culture system using microalgae and mammalian myoblasts for the production of sustainable cultured meat*, in *Archives of Microbiology*, 204, 10, 2022, 615.

⁷⁴ S. RIZVI et al., *Global land use implications of dietary trends*, in *PloS one*, 2018, 13, 8, e0200781.

⁷⁵ Y. HARAGUCHI, Y. OKAMOTO, T. SHIMIZU, *op. cit.*, e S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

⁷⁶ Y. HARAGUCHI, Y. OKAMOTO, T. SHIMIZU, *op. cit.*, e S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

⁷⁷ J. LYNCH, R. PIERREHUMBERT, *Climate impacts of cultured meat and beef cattle*, in *Frontiers in sustainable food systems*, 3, 2019, 421491.

⁷⁸ N. TREICH, *Cultured Meat: Promises and Challenges*, in *Environmental and Resource Economics*, 2021, 79, 1, 33-61.

Per ulteriori approfondimenti sui profili regolatori, anche con riferimento a Singapore, si rinvia al contributo di G. Fornici nel presente *Focus On*.

⁷⁹ *Ibidem*.

⁸⁰ *Ibidem* e S. CHRIKI, J.F. HOCQUETTE, *op. cit.*

Focus on di origine animale, la cui futura ampia introduzione sul mercato necessita di accurate valutazioni preventive dei rischi per salvaguardare la salute dei consumatori. Tale valutazione deve essere effettuata in ogni fase della filiera produttiva, più precisamente dal prelievo delle cellule e dalla relativa proliferazione e differenziazione, fino alla commercializzazione del prodotto finale, individuando possibili soluzioni. Sebbene questi aspetti debbano continuare a essere indagati per garantire un prodotto sicuro per il consumatore, la crescente domanda di diversificazione del mercato e le opportunità di sicurezza alimentare associate alla scarsità di cibo, oltre a giustificare la commercializzazione della carne di coltura, rappresenterebbero un'opportunità per posizionare la carne di coltura come alimento del futuro.