

CARNE COLTIVATA

# Un'alternativa sostenibile per il futuro alimentare



©Marco de Benedictis, shutterstock.com

MAURIZIO FERRI, MARIA GRAZIA COFELICE  
*Servizio Veterinario, ASL Pescara*

## La carne coltivata: un futuro promettente tra opportunità e sfide

La carne coltivata, o carne a base cellulare, rappresenta un'innovazione chiave nell'emergente campo dell'agricoltura cellulare. Questa tecnologia mira a produrre alimenti utilizzando cellule staminali prelevate da animali vivi (o carcasse) e coltivate in bioreattori, eliminando la necessità di sacrificare animali o di ricorrere all'allevamento tradizionale. Ancora in fase di sviluppo, la carne coltivata offre numerosi vantaggi che la propongono come valida alternativa alla carne convenzionale: riduzione dell'allevamento e della macellazione con un impatto etico significativo, minor impatto ambientale, minore utilizzo di suolo e acqua, riduzione delle emissioni di gas serra e della deforestazione, minore rischio di zoonosi come influenza aviaria e la salmonella [1], minore uso di antibiotici

contribuendo al contrasto del problema dell'antibiotico-resistenza [2]. Considerando la costante crescita della popolazione globale e le crescenti preoccupazioni su come soddisfare la domanda di prodotti animali di quasi otto miliardi di persone entro il 2050 [3, 4], che metteranno a dura prova le risorse disponibili a causa di fattori come sfruttamento dei terreni per l'allevamento intensivo, disboscamento, minaccia alla biodiversità ed emissione di gas serra responsabili degli effetti disastrosi del cambiamento climatico, la carne coltivata si presenta come una fonte proteica alternativa efficiente e sostenibile per le generazioni future.

Come per ogni nuova tecnologia, il tema della carne coltivata genera posizioni estreme nel dibattito attuale. Si va dal rifiuto ideologico verso tutto ciò che è percepito come "alimentazione artificiale" (neofobia) all'apertura totale verso l'innovazione tecnologica e la diversificazione dell'industria alimentare.

Il settore della carne coltivata è destinato a rivoluzionare il mercato alimentare globale. Secondo le stime della società di consulenza AT Kearney (2019) [5], entro il 2040 potrebbe raggiungere il 35% del mercato totale della carne, con un valore complessivo di 640 miliardi di dollari, includendo anche gli analoghi vegetali. Tuttavia, le proiezioni sui volumi di produzione mostrano che entro il 2030 la carne coltivata, pur in costante crescita, potrà coprire solo lo 0,5% della domanda globale (circa 2,1 milioni di tonnellate) a causa delle limitate capacità dei bioreattori attuali [6]. Un'analisi più recente di Systemiq Ltd. e Good Food Institute (GFI) [7] rivela i molteplici benefici della carne coltivata per l'Unione Europea. Questa tecnologia offre miglioramenti nutrizionali (profili lipidici più sani, meno tossine) e una riduzione dei rischi zoonotici e di resistenza antimicrobica. Inoltre, può stabilizzare la disponibilità alimentare riducendo i costi e la dipendenza dalle importazioni di mangimi. Il settore della carne coltivata prevede un mercato globale tra i 170 e i 510 miliardi di euro entro il 2050. Nello scenario più ottimistico, l'Europa potrebbe generare 15-80 miliardi di euro all'anno e creare 25.000-90.000 nuovi posti di lavoro. L'UE ha un vantaggio competitivo grazie alla sua eccellenza nella ricerca e biotecnologia. Per sfruttare appieno queste opportunità, la carne coltivata deve diventare accessibile, con costi paragonabili a quelli della carne tradizionale. Ciò richiede un quadro normativo trasparente e investimenti significativi. Per realizzare questo scenario ambizioso, sono necessari 55 miliardi di euro di investimenti globali medi annui entro il 2050, di cui 5 miliardi dall'UE (500 milioni pubblici). Tali investimenti nel settore alimentare hanno dimostrato di generare benefici superiori ad altri settori. La crescita della carne coltivata potrebbe mitigare fino a 3,5 gigatonnellate di emissioni di gas serra entro il 2050, risparmiare un terzo dei terreni agricoli e milioni di metri cubi d'acqua, migliorando salute pubblica e sicurezza alimentare. È cruciale che il 40% degli investimenti sia destinato a Ricerca e Sviluppo e il 60% alle infrastrutture per attrarre capitali privati e sostenere la crescita del settore.

### Oltre la carne: l'agricoltura cellulare in espansione

Il settore non si limita alla carne; è attualmente orientato anche verso la produzione di alimenti coltivati come pesce, latte, uova e altri prodotti di origine animale. I recenti sviluppi biotecnologici hanno inoltre aperto la strada alle applicazioni della fermentazione di precisione. A differenza della fermentazione tradizionale, che si basa sulla crescita microbica e sul metabolismo per la trasformazione degli alimenti, la fermentazione di precisione sfrutta microrganismi ingegnerizzati che operano come vere e proprie "fabbriche di cellule". Questo permette la produzione mirata di ingredienti alimentari specifici, come: vanillina, L-arabinosio e resveratrolo da *Saccharomyces cerevisiae* ingegnerizzato, acidi grassi omega-3 da *Yarrowia lipolytica* ingegnerizzata, leghemoglobina di soia e ovoalbumina da *Komagata ellaphaffii* e *Trichoderma reesei* ingegnerizzati.

### Terminologia

L'accettazione della carne coltivata da parte dei consumatori è cruciale; sarà indispensabile superare la diffidenza e informare correttamente il pubblico per garantirne l'adozione. La carne coltivata è conosciuta con numerosi nomi, tra cui *cell-based meat*, *cultivated meat*, *lab-grown meat*, *clean meat*, *cultured meat* e *in vitro meat*. Sul fronte della comunicazione, l'aspetto semantico con l'utilizzo di una terminologia per i nuovi alimenti prodotti utilizzando nuove tecnologie - più facilmente comprensibile dal grande pubblico - è rilevante per superare la potenziale neofobia e la possibile riluttanza verso le nuove scelte alimentari. L'uso di espressioni come "carne sintetica" o "artificiale" può generare paura e diffidenza, dato che gli alimenti percepiti come innaturali difficilmente vengono accettati dai consumatori. Per evitare confusione, i termini "cellulare" e "coltivato" sono i più utilizzati dall'industria e dalle autorità regolatorie. In assenza di una definizione legale univoca, l'EFSA intende per alimenti derivati da colture cellulari di origine animale o vegetale "alimenti prodotti dalla propagazione di cellule animali/vegetali assistita da tecniche di ingegneria tissutale". Il rapporto FAO-WHO (2023) [8] elenca ben 23 diverse denominazioni per questo tipo di prodotto. Possiamo proporre la seguente definizione: la carne coltivata è una carne animale genuina, in grado di replicare le stesse proprietà sensoriali e nutrizionali di quella convenzionale in quanto costituita dallo stesso tipo di cellule organizzate nella stessa struttura dimensionale del tessuto muscolare animale. In parole povere, la carne coltivata è prodotta a partire da vere cellule animali, ad esempio cellule prelevate da un bovino, un pollo, un suino, un pesce. L'unica differenza è che il prodotto è sempre basato su cellule animali ma non siamo costretti ad allevare e macellare animali.

### Le sfide future

Nonostante le promettenti prospettive, il percorso della carne coltivata presenta diverse sfide significative. Innanzitutto, i costi di produzione elevati rappresentano un ostacolo importante per rendere la produzione economicamente sostenibile e su larga scala per soddisfare la crescente domanda di proteine animali. Per esempio, per rispondere all'aumento del fabbisogno stimato nel valore del 35-56% del fabbisogno proteico entro il 2050 (circa 60 milioni di tonnellate aggiuntive), le tecnologie attuali sono insufficienti [9].

Il massimo *scaling-up* raggiungibile oggi prevede bioreattori da 20 kL che producono circa tre tonnellate di biomassa fresca in 40 giorni. Con un massimo di 10 cicli all'anno per bioreattore, la produzione teorica totale è di 300 tonnellate di biomassa cellulare [10]. Sostituire solo il 10% del mercato globale della carne entro il 2030 (40 milioni di tonnellate) richiederebbe circa 4.000 laboratori, ciascuno con 130 bioreattori, per un costo complessivo stimato di 1,8 trilioni di dollari [11].

## L'evoluzione della carne coltivata

L'idea di cibo sintetico o coltivato in laboratorio non è nuova. Già nel 1923, J.B.S. Haldane la introdusse nel suo lavoro "Dedalo della scienza e del futuro" [12]. Poco dopo, nel 1930, Frederick Smith, in una sua previsione sul mondo del 2030, menzionò bistecche e petti di pollo prodotti in laboratorio [13]. L'intuizione fu ripresa anche da Winston Churchill nel 1931, che prevede la possibilità di coltivare parti di animali senza dover allevare l'intero animale.

Le basi scientifiche iniziarono a prendere forma nel 1971, quando il ricercatore Russell Ross coltivò con successo tessuto muscolare liscio in vitro, aprendo la strada alla futura ricerca sulla carne coltivata. Il primo brevetto specifico per la carne coltivata fu realizzato dallo scienziato olandese Willem Van Eelen nel 1997 [14] e oggi sua figlia Ira van Eelen, cofondatrice di RESPECT farms sta portando avanti la sua visione dell'allevamento del futuro con la decentralizzazione della produzione di carne coltivata in allevamento, basata sulla sostenibilità, approccio interdisciplinare e condivisione delle conoscenze nella catena del valore della produzione di carne. I primi esperimenti concreti si ebbero all'inizio del nuovo millennio. Nel 2001, la NASA condusse la prima ricerca sulla coltura di cellule muscolari di tacchino. Successivamente, nel 2002, il NSR/Tuoro Applied Bio Science Research Consortium produsse il primo filetto di pesce commestibile coltivato dalle cellule di pesci rossi, pubblicando la prima ricerca sulla carne coltivata [15]. Il decennio tra il 2000 e il 2010 vide l'arrivo dei primi finanziamenti per startup e organizzazioni no profit, come New Harvest. Il 2008 vede la realizzazione del primo convegno in Norvegia, presso il "Norwegian Food Research Institute", sulla carne prodotta da colture cellulari [16]. Il vero punto di svolta per la visibilità pubblica avvenne nel 2013, quando Mark Post, farmacologo dell'Università di Maastricht, presentò il primo prototipo di hamburger a base di cellule di muscolo scheletrico bovino. All'epoca, il costo era proibitivo, circa 290 mila euro per 142 grammi [17] ma nei dieci anni successivi i costi crollarono drasticamente grazie al miglioramento dei fattori produttivi.

A partire dal 2015, diverse startup iniziarono a emergere. Memphis Meats (USA) fu fondata con l'obiettivo di produrre carne coltivata su scala commerciale, seguita nel 2016 dalla startup israeliana SuperMeat, focalizzata sul pollo coltivato. Nel 2017, Memphis Meats produsse con successo la prima polpetta di carne coltivata, dimostrando la fattibilità della produzione di carne bovina in vitro.

### Verso la commercializzazione e i costi attuali

Dal 2020 in poi, la metodologia di produzione alimentare basata sulla coltivazione cellulare ha iniziato a spostarsi dai laboratori agli impianti di produzione. A marzo 2022, il costo di un hamburger artificiale si attestava tra i 9 e i 10 dollari. Attualmente, il costo stimato di produzione della carne coltivata è di circa 63 dollari al kg [18]. Per diventare diretta-

mente competitiva con la carne bovina tradizionale, questo costo dovrà scendere a meno di 9 dollari/kg. Il settore è in fermento: si contano 159 startup a livello globale impegnate nella ricerca sui cibi coltivati, di cui 48 negli Stati Uniti e 47 nell'Unione Europea [19].

Oggi, oltre cinquanta aziende in Europa lavorano su diversi aspetti dell'ecosistema, dai terreni di coltura e bioreattori alla progettazione di linee cellulari e materiali di supporto.

Non si tratta più di un esperimento di startup, ma sta diventando una realtà industriale. Basti pensare che il Regno Unito sta diventando leader nella regione europea, con il governo che ha istituito il *National Alternative Protein Innovation Centre* con oltre 100 milioni di euro di investimenti pubblici, oltre alle recenti autorizzazioni normative per il pet food. Il governo danese è sulla stessa strada.

Sul fronte della commercializzazione, Singapore è stato il paese pioniere autorizzando nel 2020 la vendita di crocchette di pollo a base di cellule coltivate da parte di Good Meat, sussidiaria della startup americana Eat Just.

Negli Stati Uniti, dopo una consultazione pre-commercializzazione della Food and Drug Administration (FDA) nel 2022, a giugno 2023 il Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti (USDA) ha autorizzato due aziende, GoodMeat e UpsideFoods, per la distribuzione commerciale di prodotti a base di pollo coltivato [20]. Eat Just ha già annunciato l'intenzione di costruire un impianto negli Stati Uniti con 10 bioreattori da 250.000 litri, capaci di produrre 14 milioni di kg di prodotto all'anno. Nel 2024, è arrivato il via libera alla vendita di carne coltivata da cellule bovine in Israele, dove fino a poco tempo fa era possibile servire carne di pollo nel ristorante "The Chicken" di Tel Aviv previa liberatoria firmata dai clienti.

Questa carne è coltivata a partire da cellule staminali di bovini di razza Black Angus. Non essendoci prodotti di derivazione animale come il siero fetale bovino, eccezion fatta per le cellule iniziali che provengono da ovuli fecondati, questa carne risponde ai requisiti religiosi ebraici per cui è dichiarata kosher.

Il Ministero della Sanità israeliano ha infatti approvato il commercio del prodotto sviluppato dalla startup Aleph Farms. Israele è un hub importante in questo campo, finanziando numerosi progetti di ricerca e ospitando tre delle prime otto aziende mondiali (Aleph Farms, Super Meat e Believer Meats). Nello stesso anno, la startup israeliana Vow ha prodotto il primo foie gras coltivato, etico e sostenibile. Nell'anno in corso, la startup indiana Biokraft Food ha in previsione di lanciare pollo coltivato stampato in 3D.

Nell'Unione Europea è necessaria una valutazione come "Novel Food" da parte dell'EFSA. Ci sono diverse aziende come Mosa Meat e Gourmey che hanno richiesto autorizzazioni per il grasso di manzo coltivato e il foie gras coltivato ma la procedura è lunga e richiede tempo.

Nel 2023, il governo britannico ha annunciato un finanziamento da 12 milioni di sterline per un centro di ricerca

sulla carne coltivata e sulla fermentazione di precisione, uno tra i maggiori al mondo supportato da fondi pubblici. Nel 2024 Meatly ha ricevuto l'autorizzazione per vendere carne di pollo coltivato come petfood.

Nel 2023 Aleph Farms ha presentato la prima domanda di autorizzazione di steak di manzo coltivato in Europa alle autorità di svizzere, per poi presentarne una nel Regno Unito. In sintesi, sei aziende produttrici di carne coltivata hanno ricevuto l'autorizzazione normativa, i prodotti sono in vendita negli Stati Uniti, a Singapore e in Australia e altri prodotti sono in fase di revisione in 10 diversi paesi o regioni. I prodotti a oggi autorizzati e disponibili sul mercato o in fase avanzata di lancio sono (tabella 1):

- Carne bovina coltivata: Israele (AlephFarms).
- Quaglia coltivata: 2024 Singapore, (Vow).
- Crocchette di pollo: Singapore 2020 (Eat Just tramite la sussidiaria GoodMeat)/Stati Uniti (Upside Foods, Good Meat, Mission Barns).

Inoltre, ci sono 3 prodotti approvati per gli animali domestici nel Regno Unito (Meatly, 2024), Repubblica Ceca (Bene Meats) e Austria (Biocraft Pet Nutrition).

### Aspetti regolatori della carne coltivata

Affinché la carne coltivata possa essere commercializzata nell'Unione Europea, è necessario che venga valutata come

*Novel Food* (nuovo alimento) dall'EFSA (Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare) ai sensi del Regolamento (UE) 2015/2283 [21] (tabella 2). Se prodotta con cellule ingegnerizzate o immortalizzate, è prevista anche una valutazione di sicurezza specifica, in linea con il Regolamento (CE) n. 1829/2003 sugli alimenti e mangimi OGM. Le decisioni finali sull'autorizzazione all'immissione in commercio e sui requisiti di etichettatura spettano alla Commissione Europea, in collaborazione con gli Stati membri dell'UE, che considereranno anche aspetti economici, di benessere animale, sociali e di altra natura. L'EFSA sta attivamente sviluppando le competenze e le metodologie per la valutazione del rischio in questo settore in rapida evoluzione. A tal proposito ha pubblicato nel 2024 nuove linee guida specifiche per la valutazione dei prodotti derivati dall'agricoltura cellulare (*Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283*). Queste direttive definiscono in modo chiaro i requisiti e i criteri per le domande di autorizzazione come *Novel Food*. È responsabilità del richiedente fornire informazioni scientifiche dettagliate che dimostrino la sicurezza per il consumatore. Questo include dati precisi sulla composizione e l'identità del prodotto, informazioni tossicologiche, dati sull'esposizione e nutrizionali, valutazioni della allergenicità e una

Tabella 1. Paesi che hanno autorizzato la carne coltivata o in fase di lancio			
Paese/Regione	In vendita?	Fase autorizzativa	Richieste
Stati Uniti	 	   	
Singapore		 	
Israele	Prima vendita in attesa di etichettatura e ispezione impianto		Altre attese nel 2025
Thailandia			
Australia			Altre attese nel 2025
Nuova Zelanda			
Svizzera			Molte
Regno Unito			Molte
Corea del Sud			
Unione Europea			 
Hong Kong			



dimostrazione della stabilità genetica e fenotipica delle linee cellulari animali utilizzate. È inoltre indispensabile che i protocolli dei test siano validati. Le linee guida aggiornate sui nuovi alimenti richiedono di fornire informazioni e studi tossicologici completi, simili a quelli comunemente definiti “studi preclinici”, per valutare la sicurezza dei nuovi alimenti, compresi quelli derivati da colture cellulari. Se tali prove non consentono una valutazione del rischio conclusiva, potrebbero essere richiesti test aggiuntivi, inclusi studi di intervento sull’uomo (ovvero studi clinici), per colmare lacune o incertezze nei dati. Questo approccio è già stato applicato in precedenti e attuali valutazioni di nuovi alimenti. Il gruppo di esperti scientifici responsabile continuerà a condurre valutazioni approfondite, caso per caso, per ciascun prodotto e potrà utilizzare ogni livello di studio richiesto, inclusi test sia preclinici che clinici, per determinarne la sicurezza.

Da un punto di vista scientifico, l’EFSA valuta nuovi alimenti come qualsiasi altro, in conformità con il regolamento istitutivo per giungere a una conclusione sulla sicurezza del prodotto. Gli alimenti derivati da colture cellulari non fanno eccezione. Pertanto, se necessario, potrebbero essere richiesti studi clinici, ma questa non è la norma. Per quanto riguarda l’impostazione degli studi di intervento sull’uomo, si prega di notare che l’EFSA non è responsabile della definizione dei protocolli di studio. Tuttavia, alcune considerazioni pertinenti sono reperibili nel documento EFSA sulle linee guida sui nuovi alimenti. In alcuni casi, l’EFSA ha richiesto ai richiedenti di condurre studi sull’uomo per affrontare questioni specifiche che erano critiche per la valutazione; ad esempio, quando gli effetti osservati negli studi sugli animali non potevano essere facilmente/significativamente estrapolati all’uomo. Nel contesto della valutazione del rischio dei nuovi alimenti, l’EFSA ha valutato diverse tipologie

di studi sull’uomo, presentati dai richiedenti o forniti su richiesta dell’EFSA stessa. Tra questi figurano, ad esempio, studi clinici interventistici sull’uomo, studi osservazionali, studi di tollerabilità e studi farmacocinetici. Naturalmente, l’impatto di ciascun studio sulla conclusione complessiva della valutazione del rischio dipende da fattori quali la qualità dello studio, il disegno e gli aspetti indagati.

Un punto cruciale per i consumatori è la trasparenza dell’eticheatura: i nomi legali e le condizioni d’uso della carne coltivata saranno sempre specificati nell’autorizzazione del *Novel Food*. Attualmente, l’Authority ha ricevuto la prima richiesta di pre-autorizzazione per la salsiccia coltivata dall’azienda biotecnologica tedesca The Cultivated B. Questa azienda, in collaborazione con la consociata The Family Butchers, intende produrre salsicce ibride, composte da ingredienti vegani e una significativa quantità di carne coltivata [22]. In Francia la start-up Gourmey ha presentato alla UE la prima richiesta di autorizzazione per la vendita di foie gras coltivato.

## Il contesto europeo e globale

Il Regno Unito, un attore chiave nello sviluppo di sistemi di colture cellulari su larga scala grazie al lavoro dei bioingegneri dell’Università di Bath, è pronto a siglare un accordo di collaborazione con Israele [23]. Il Governo tedesco, nel suo bilancio 2024, promuove attivamente alternative alla carne, come latticini fermentati con tecnologie di precisione, prodotti a base vegetale e carne coltivata. Il paese destina inoltre rilevanti investimenti per la creazione di un centro di competenza sulle proteine del futuro e un forum di stakeholder sul tema [24]. I Paesi Bassi hanno varato una legge che istituisce un comitato di esperti incaricato di analizzare la sicurezza dei prodotti proposti da due aziende olandesi pioniere nel settore degli alimenti a base cellulare, Mosa Meat e Meatable. Queste aziende intendono organizzare assaggi riservati esclusivamente agli addetti ai lavori. A livello globale, le tre maggiori startup del settore - Believer Meats, Eat Just e Upside Foods - hanno già raccolto oltre 1,2 miliardi di dollari in finanziamenti combinati per portare i loro prodotti sugli scaffali dei supermercati [25]. Come già indicato anche la Svizzera ha avviato il processo di autorizzazione e vendita al pubblico della carne coltivata: l’Ufficio federale per la sicurezza alimentare e veterinaria ha ricevuto la richiesta dalla startup israeliana AlephFarms per la commercializzazione della sua bistecca di manzo prodotta in laboratorio [26].

L’UE sostiene attivamente la ricerca sulla carne coltivata attraverso Horizon Europe, il suo principale programma di ricerca e innovazione, in linea con le strategie Farm-to-Fork e Green Deal. A ottobre 2021, il programma REACT-EU, lanciato in risposta alla pandemia di Covid-19, ha assegnato 2 milioni di euro alle aziende olandesi Mosa Meat e Nutreco per studiare soluzioni volte a ridurre il costo dei terreni di coltura e migliorare ulteriormente la sostenibilità [27]. A giugno 2021, Horizon Europe ha pubblicato tre

**Tabella 2.** Processo di valutazione e autorizzazione della carne coltivata nell’UE (Regolamento (UE) 2015/2283 su novel food)

• **Valutazione del rischio:** la Commissione Europea richiede il parere scientifico favorevole di EFSA (Panel su nutrizione, nuovi alimenti e allergeni alimentari) sulla base di prove di sicurezza, proprietà nutrizionali, tossicologiche e allergeniche. Se realizzata con cellule ingegnerizzate o immortalizzate viene effettuata la valutazione di sicurezza ai sensi del Regolamento CE n. 1829/2003 su alimenti e mangimi OGM

• **Gestione del rischio:** la Commissione Europea e Stati membri dell’UE valuteranno gli aspetti economici, benessere animale, impatto sociali e/o di altro tipo

• **Autorizzazione:** atto di esecuzione della Commissione esaminato dal Comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi (PAFF) (rappresentanti della Commissione e 27 stati membri).

• Iscrizione del prodotto nel registro UE dei *novel food*

bandi per un totale di 32 milioni di euro, destinati alla ricerca su proteine alternative (inclusa la carne e i frutti di mare coltivati) e allo studio degli aspetti di sostenibilità in relazione all'impatto ambientale, economico e sociale [28]. Gli investimenti pubblici nell'UE sono in aumento: a gennaio 2021, il governo spagnolo ha assegnato 5,2 milioni di euro a BioTech Foods per studiare i benefici sanitari legati alla carne coltivata. La brasiliana JBS, la seconda più grande azienda alimentare al mondo, ha annunciato nel 2023 un investimento di 100 milioni di dollari nella startup spagnola BioTech Foods per la costruzione di uno stabilimento di ricerca e produzione di carne coltivata in Spagna, con completamento previsto nel 2024 [29].

Anche BRF SA, azienda brasiliana di trasformazione di carni avicole e suine, si era avventurata nel 2021 nel settore con un investimento di 2,5 milioni di dollari nella startup israeliana AlephFarms [30]. In Italia, l'unica startup nel settore, la trentina Bruno Cell, finanzia e gestisce progetti di ricerca volti ad acquisire know-how e brevettare processi di proliferazione cellulare ottimizzati.

A gennaio 2024 è stato lanciato il programma FEASTS (*Fostering European Cellular Agriculture for Sustainable Transition Solutions*), finanziato dal programma Horizon "From-farm-to-fork". Questo progetto di ricerca interdisciplinare, che vede la partecipazione di un consorzio di 36 istituzioni indipendenti da 17 paesi e un finanziamento di 7 milioni di euro in tre anni, intende approfondire le tecnologie coinvolte nella produzione sostenibile di carne e frutti di mare, analizzandone anche gli aspetti nutrizionali, sanitari, normativi, di sicurezza alimentare ed etici [31].

I prezzi ancora elevati della carne coltivata hanno spinto giganti dell'industria alimentare come JBS, Tyson Food, Kellogg's e Cargill a investire in ricerca e sviluppo, collaborando con startup emergenti e aziende biotecnologiche per ridurre i costi di produzione. Gli investimenti pubblici e privati nel settore della carne coltivata hanno registrato una crescita esponenziale, passando da sei milioni di dollari nel 2016 a 1,38 miliardi nel 2021 [32]. La startup americana Wildtype ha ottenuto finanziamenti per oltre 140 milioni di dollari da investitori di spicco, tra cui Catterton, Leonardo Di Caprio, Cargill e Bezos Expeditions. La loro struttura potrebbe teoricamente produrre 200.000 kg all'anno di salmone a base cellulare [33]. Negli Stati Uniti, è stato istituito un centro di eccellenza nell'agricoltura cellulare presso la Tufts University, finanziato con 10 milioni di dollari dalla USDA. Il suo scopo è lanciare un'alleanza tecnologica per la carne coltivata attraverso un consorzio di aziende, inclusa la startup cinese CellX. L'università ha istituito una task force specializzata per risolvere i problemi di ricerca proposti dalle aziende, mentre le aziende forniscono suggerimenti dal punto di vista industriale [34]. Un'iniziativa simile è seguita nel Regno Unito con il finanziamento di un polo di produzione di agricoltura cellulare guidato dall'Università di Bath. L'azienda americana Defined Bioscience, che opera nel campo delle cellule staminali per le scienze della

vita e la carne coltivata, ha ricevuto 1,5 milioni di dollari dal National Institutes of Health per sviluppare un supplemento per i terreni delle colture cellulari [35].

Secondo GFI le opportunità di mercato sono notevoli e le stime attuali indicano un futuro promettente per la carne coltivata con investimenti totali per 3 miliardi di dollari a oggi e un potenziale che oscilla tra 5 e 25 miliardi di dollari entro il 2030, prevedendo una produzione che potrebbe raggiungere i 2,1 milioni di tonnellate, a seconda del livello di accettazione da parte dei cittadini e degli sviluppi tecnologici [36]. Per realizzare questi volumi ambiziosi, sarebbe necessaria una capacità produttiva significativa dei bioreattori, stimata intorno ai 60 milioni di litri. A oggi, la dimensione dei bioreattori operativi varia considerevolmente: mentre i più comuni sono da 2.000 litri, esistono già impianti più grandi come quello di Good Meat a Singapore, che raggiunge i 6.000 litri, e il progetto di Omeat negli Stati Uniti, con un bioreattore da 10.000 litri. Come già accennato si stima che nel 2040 la carne coltivata occuperà il 35% della quota di mercato, a fronte di una diminuzione del 40% della carne convenzionale [37].

### La posizione dell'Italia: una controtendenza

Mentre quasi tutti i Paesi europei segnalano progetti di ricerca, sostegno a startup e collaborazioni internazionali, l'Italia, e alcuni altri paesi sono in controtendenza con quanto accade nel resto del mondo. Il nostro paese con la legge n. 172 del 2023 ha vietato la produzione, commercializzazione e importazione della carne coltivata, e persino l'uso di termini come "burger" o "bistecca" per prodotti a base vegetale. Questa legge, con una logica senza precedenti nel diritto, non solo tenta di imporre ai cittadini italiani cosa possono o non possono mangiare, ma soffoca l'innovazione e viola la normativa comunitaria. L'Italia rischia di essere tagliata fuori da un'opportunità significativa di ricerca, business e progetti industriali per la vendita di prodotti più ecologici e sostenibili. A farne le spese saranno centri di ricerca universitari e startup come la trentina Bruno Cell.

Il provvedimento del Governo italiano si rivela non solo oscurantista e antiscientifico, ma anche anacronistico e paradossale (poiché vieta un prodotto che di fatto non è ancora commercializzato). È inoltre incoerente sotto due profili normativi: da una parte, contravviene al principio di precauzione del Regolamento CE 178/2002, che si applica solo ad alimenti già commercializzati nell'UE con dati preliminari che suggeriscono un potenziale pericolo; dall'altra, impedisce l'importazione di carne coltivata dall'estero, violando l'articolo 34 del Trattato sul funzionamento dell'UE che vieta le restrizioni quantitative alle importazioni tra Stati membri.

Inoltre, il Governo italiano, ritardando l'invio della bozza del provvedimento alla Commissione Europea e ad altri Paesi dell'UE, ha violato la procedura TRIS, il che potrebbe comportare l'inapplicabilità della legge, come verificatosi in passato. Se le istituzioni europee dovessero approvare

la commercializzazione di carne coltivata, come appare sempre più probabile, l'Italia potrebbe essere sanzionata per violazione del mercato libero europeo e invitata ad adeguarsi alla normativa comunitaria. È anche altamente improbabile che la legge italiana venga annullata da un provvedimento dell'UE. È interessante notare come la legge vieti solo la carne coltivata di vertebrati, lasciando potenzialmente aperta la possibilità di produrre carne di crostacei e cefalopodi in Italia. Come evidenziato da un gruppo di biotecnologi italiani sulla rivista "Nature Biotechnology", il provvedimento italiano compromette il progresso scientifico e sociale di questo settore emergente, con il rischio di delocalizzare i centri di ricerca. Gli stessi ricercatori propongono una forma di autoregolamentazione, simile a quanto avvenne ad Asilomar nel 1975 durante la conferenza sul DNA ricombinante, che portò alla condivisione di linee guida per l'uso sicuro. L'obiettivo di una "seconda Asilomar" è coinvolgere il pubblico e le istituzioni nel dibattito scientifico, per aumentare l'interesse nella ricerca biomedica e nelle questioni critiche, costruendo un consenso che eviti un divieto che, come accaduto in passato, potrebbe soffocare questo campo emergente [38].

## Carne coltivata e religione

Il settore della carne coltivata suscita l'interesse anche all'interno delle comunità religiose. Per entrare nei mercati kosher e halal, la carne coltivata deve rispettare standard e requisiti specifici, compreso il modo in cui il prodotto è stato realizzato e il luogo in cui ha origine. L'Unione Ortodossa, l'autorità di certificazione kosher più grande e influente al mondo, ha di recente certificato come kosher i prodotti a base di pollo dello startup israeliano Super Meat segnando un passo avanti verso l'accettazione della tecnologia alimentare secondo la legge alimentare ebraica [36]. Secondo le norme kosher, i prodotti a base di carne devono provenire da animali macellati e nulla può essere derivato da una creatura vivente. I prodotti certificati di Super Meat eludono queste restrizioni coltivando carne a partire da cellule staminali di uova fecondate prima che compaiano macchie di sangue. L'azienda GoodMeat ha convocato un gruppo di tre esperti della sharia che hanno esaminato la produzione dell'azienda e hanno affermato che la carne coltivata può essere halal se, tra gli altri fattori, le cellule da cui viene prodotta la carne provengono da un animale macellato secondo la legge islamica. Anche l'agenzia che regola le certificazioni halal a Singapore ha rilasciato una dichiarazione simile in materia. Attualmente la carne prodotta da Good Meat, che negli Stati Uniti ha ricevuto l'ok al consumo, non soddisfa questo criterio, ma secondo l'azienda ora è più chiara la direzione in cui procedere.

## Il processo di produzione di carne coltivata

La produzione di carne coltivata è un processo innovativo che sfrutta le tecnologie di coltura cellulare e ingegneria tissuta-

le-cellulare per creare prodotti a base di carne direttamente dalle cellule animali. Questo approccio, che prende spunto dalla medicina rigenerativa umana, consente di produrre carne al di fuori dell'animale, secondo forme e funzioni previste offrendo un'alternativa potenziale alla produzione tradizionale [40].

## Le fasi chiave del processo di produzione

Il processo di produzione di carne coltivata si articola in diverse fasi fondamentali e sotto-fasi, ognuna con le proprie specificità.

**Approvvigionamento cellulare.** Il punto di partenza è il prelievo in sterilità di un piccolo campione di tessuto da un animale vivo (tramite biopsia) o da una carcassa. Questo campione contiene cellule, tipicamente cellule muscolari come le cellule satellite, capaci di differenziarsi. Per replicare al meglio la carne tradizionale, si possono includere anche tessuti adiposo, connettivo e vascolare, sebbene questi richiedano linee di produzione separate. È possibile mantenere in laboratorio queste cellule linee cellulari selezionate per proliferare, differenziarsi e per crescere indefinitamente (stoccaggio delle cellule in biobanche).

**Isolamento cellulare.** Il campione di tessuto viene sottoposto a digestione enzimatica e rottura meccanica per isolare le singole cellule desiderate, principalmente cellule muscolari, fibroblasti e adipociti.

**Coltura cellulare e proliferazione.** Le cellule isolate vengono poste in un terreno di coltura all'interno di un bioreattore (contenitori simili ai fermentatori usati per la produzione di birra, vino, formaggio e yogurt) o di un pallone da coltura cellulare. Questo ambiente controllato assicura condizioni ottimali di temperatura, pH e livelli di ossigeno per supportare la crescita e la divisione cellulare. Il terreno di coltura è composto da un mezzo basale e fattori specifici. Il mezzo basale è una soluzione tamponata di glucosio, amminoacidi, sali inorganici e vitamine, spesso con l'aggiunta di antibiotici e antimicotici che dovranno essere valutati nel prodotto finito. I fattori specifici comprendono proteine ricombinanti, fattori di crescita, come TGF- $\beta$  o fattore di crescita trasformante beta e il fattore di crescita dei fibroblasti 2bFGF2 costituiti da proteine specializzate che si legano ai recettori cellulari e stimolano le cellule a crescere o differenziarsi [41], ma anche ormoni, lipidi e antiossidanti, che promuovono il mantenimento, la proliferazione e il differenziamento cellulare. Inizialmente, i terreni di coltura utilizzavano siero fetale bovino (FBS), per la presenza di fattori di crescita, ormoni e sostanze nutritive che supportano la crescita e la proliferazione cellulare, ma per motivi di costo, scalabilità, benessere animale e sicurezza, si stanno sviluppando formulazioni a ridotto contenuto di siero o completamente prive di siero animale (*serum-free*). Durante la fase di proliferazione, le cellule possono crescere in sospensione, aderire a *microcarrier* (piccole sfere preferibilmente food-grade che fungono da substrato temporaneo e offrono un'ampia superficie per la crescita cellulare), o formare sferoidi

cellulari. I *microcarrier* commestibili, come quelli a base di collagene e chitosani, sono particolarmente promettenti in quanto possono essere incorporati nel prodotto finale. Sono i candidati più promettenti per l'*upscaling* in quanto consentono di avere elevate densità cellulari rispetto alla coltura bidimensionale [42]. Possono essere separati dalle cellule, un'operazione che presenta però costi aggiuntivi e verifiche di sicurezza alimentare per eventuali residui nel prodotto finito (come MOCA), oppure degradati o dissolti durante il processo di produzione (come coadiuvanti tecnologici) o, ancora meglio, resi commestibili utilizzando collagene e chitosani incorporati nel prodotto finito (come ingredienti o additivi). In quest'ultimo caso funzionano come additivi per i quali sarà necessario stabilire un limite soglia.

**Differenziazione e maturazione.** Una volta ottenuto un numero sufficiente di cellule, queste vengono indotte a differenziarsi in cellule muscolari. Questo si ottiene modificando le condizioni di coltura, alterando la composizione dei nutrienti o applicando stimolazioni meccaniche o elettriche. Durante questa fase di maturazione, le cellule staminali si trasformano in mioblasti, poi miociti, che formano miotubi (le unità base delle fibre muscolari). Le fibre muscolari continuano a crescere, allinearsi e il tessuto cambia per assomigliare alla carne matura. Similmente, è possibile anche produrre tessuto adiposo, partendo da cellule pre-adipogeniche e inducendo la maturazione in adipociti sempre tramite cambiamenti nel terreno di coltura e con il supporto di impalcature. La maturazione può richiedere diverse settimane e potrebbe comportare passaggi aggiuntivi per migliorare il sapore, la consistenza e il profilo nutrizionale della carne coltivata. Per conferire alla carne coltivata una struttura simile a quella tradizionale, si utilizzano tecniche di ingegneria tissutale che impiegano impalcature (*scaffolding*). Queste sono matrici porose tridimensionali (costituite da idrogel sintetici biocompatibili, come gel di fibrina misto con collagene e Matrigel® o gel di agarosio, fibronectina, acido arginil glicil aspartico (RGD) o da materiali vegetali (mais) algali (alginato o carragenine) o funghi (chitosano) che mimano la cito-architettura tridimensionale del muscolo o matrice extracellulare fornendo supporto per l'adesione, la proliferazione e il differenziamento cellulare. Le impalcature permettono anche una perfusione continua dei terreni, simulando la vascolarizzazione naturale. Ricercatori dell'Università di Bath nel Regno Unito stanno anche esplorando impalcature naturali ed economiche, come l'erba decellularizzata. Il vantaggio consiste nell'utilizzo di un'impalcatura poco costosa e sostenibile per applicazioni di ingegneria tissutale in grado di influenzare l'allineamento cellulare, una proprietà desiderata per la coltura del muscolo scheletrico e con applicazione alla carne coltivata [43]. Un'altra tecnica avanzata è il *bioprinting*, dove le cellule, immerse in un "inchiostro" bio-compatibile, vengono stampate in 3D per creare strutture tissutali organizzate. Analogamente al tessuto muscolare, si può produrre tessuto adiposo inducendo la maturazione di cellule pre-adipogeniche. La tecnologia

di biostampa 3D è stata di recente sviluppata dal Professor Michiya Matsusaki dell'Università di Osaka in Giappone per coltivare muscoli, grasso e vasi sanguigni di cellule animali prelevate e poi combinare ogni fibra in una disposizione simile a quella della carne vera. Questa tecnica permette di riprodurre la marezza della carne derivante dal grasso intramuscolare presente nella carne rossa.

**Raccolta e lavorazione.** Raggiunta la maturità desiderata, il tessuto coltivato viene raccolto e lavorato. Questa fase include la rimozione di componenti non muscolari, come i terreni di coltura residui, e la trasformazione in prodotti finiti pronti al consumo. È importante sottolineare che i dettagli e le tecniche specifiche possono variare notevolmente tra le diverse aziende e gruppi di ricerca, in quanto il campo della carne coltivata è in continua evoluzione.

### Le fonti cellulari ideali: dalla farmaceutica all'agricoltura cellulare

Per decenni, giganti farmaceutici come Pfizer Inc. e Johnson & Johnson hanno coltivato grandi volumi di cellule per produrre vaccini, anticorpi monoclonali e altri prodotti bioterapeutici. Oggi, questa tecnologia si espande verso una nuova frontiera: l'alimentazione. L'idea è che queste stesse cellule possano essere consumate. Per la produzione di carne coltivata si utilizzano due fonti cellulari principali: le cellule primarie e le linee cellulari. Le cellule primarie sono isolate dal tessuto originale (preferibilmente muscolare o pre-adipogenico) e prelevate periodicamente da animali donatori. Queste cellule, incluse le staminali o satelliti, presentano un numero limitato di divisioni cellulari, circa 50, raggiungendo un limite noto come limite di Hayflick. Questo implica la necessità di biopsie ricorrenti da animali donatori [44]. L'utilizzo di cellule primarie comporta diverse limitazioni: l'isolamento del tipo cellulare desiderato dal tessuto raccolto è complesso, sia per l'omogeneità che per il numero di cellule. Si tratta di una procedura tecnicamente impegnativa e costosa, che non garantisce un numero sufficiente di cellule e presenta una variabilità significativa tra i campioni, influenzando la crescita, la risposta all'ambiente di coltura e la riproducibilità del processo [45]. Queste cellule vengono prelevate direttamente tramite biopsia da muscoli o organi di animali adulti (vivi o appena macellati) o embrioni, e poi coltivate in un terreno ricco di nutrienti e fattori di crescita necessari per la moltiplicazione e la differenziazione in tessuto muscolare o adiposo. Le linee cellulari, d'altro canto, possono essere create in due modi: tramite induzione (ingegneria genetica, o stimoli chimici o fisici) che le riprogramma per replicarsi indefinitamente, oppure selezionando mutazioni spontanee che conferiscono immortalità alla cellula e coltivando la popolazione risultante. I vantaggi delle cellule immortalizzate sono molteplici: maggiore stabilità e consistenza nella coltivazione, una più elevata velocità di proliferazione e una minore dipendenza da campioni di tessuto fresco. Lo svantaggio più



comune è la potenziale perdita del potenziale di differenziazione e la possibile mutazione di geni oncogeni. Le linee cellulari ideali per l'agricoltura cellulare possiedono un'estesa capacità proliferativa. Tra queste rientrano le cellule staminali embrionali pluripotenti, presenti nelle blastocisti, capaci di auto-rinnovarsi e differenziarsi in qualsiasi tipo di cellula somatica. Altre fonti promettenti sono le cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC), derivate dalla riprogrammazione di cellule somatiche adulte, e le cellule staminali mesenchimali o cellule staminali adulte, come le cellule satelliti del muscolo bovino. Queste ultime, situate tra le fibre muscolari, sono la fonte più ricercata per la loro cruciale capacità di rigenerazione muscolare, riparando e rifornendo il tessuto muscolare grazie alla loro abilità di differenziarsi in miociti maturi e fondersi per formare le fibre muscolari. Le cellule satelliti, con la loro capacità rigenerativa, possono essere derivate anche da altre specie animali, inclusi suini, pollame e pesci. Studi hanno dimostrato che le linee cellulari ricavate dai pesci (ad esempio, lo sgombero atlantico) offrono vantaggi superiori per la coltivazione rispetto a quelle di mammifero, essendo più tolleranti a bassi livelli di ossigeno, a un'ampia gamma di pH e a basse temperature [46].

### **Immortalizzazione cellulare: storia, metodi e applicazioni nella carne coltivata**

Il processo di immortalizzazione è una pietra miliare nella ricerca medica fin dai primi anni '50, con la celebre linea cellulare immortale HeLa. Questa innovazione ha permesso ai ricercatori di condurre studi prolungati senza la necessità di campioni freschi umani o animali, portando a scoperte rivoluzionarie in oncologia e immunologia [47]. Oggi, i vaccini COVID-19 di AstraZeneca Plc e J&J vengono coltivati utilizzando rispettivamente cellule umane immortalizzate di reni e retina. Il processo di produzione della carne coltivata è sorprendentemente simile. Le cellule immortalizzate vengono coltivate in grandi bioreattori, che possono produrre migliaia di chilogrammi di biomassa cellulare. I metodi di immortalizzazione, come accennato, possono basarsi su trasformazioni chimiche, fisiche, virali o genetiche (come la trasformazione oncogena o il genome editing), o sull'immortalizzazione spontanea. La trasformazione virale implica l'integrazione del materiale genetico virale (ad esempio, retrovirus o adenovirus) nel DNA della cellula ospite (come il Simian virus 40 o SV40). I geni virali o gli oncogeni (geni che promuovono la crescita cellulare incontrollata) possono interrompere i normali meccanismi di controllo del ciclo cellulare, consentendo una divisione cellulare continua [48]. Un altro metodo genetico si concentra sull'attivazione dell'enzima telomerasi transcriptasi inversa (TERT). Questo enzima blocca l'accorciamento dei telomeri del DNA, le strutture protettive situate alle estremità dei cromosomi che si accorciano a ogni divisione cellulare. Quando i telomeri diventano troppo corti, le cellule entrano in uno stato di senescenza replicativa e smettono di dividersi. L'uso della telomerasi consente alle cellule di cre-

scere indefinitamente ed è spesso combinato con altre tecniche. L'immortalizzazione indotta geneticamente può anche basarsi sull'espressione ectopica o sull'enzima ciclina-dipendente chinasi 4 (CDK4), che fornisce il "motore" per la divisione cellulare. Questo approccio si è dimostrato affidabile nella ricerca medica per le cellule satelliti umane [49] ed è stato proposto anche per gli animali da reddito [50]. Altre modificazioni genetiche possono comportare l'attivazione di geni che promuovono la crescita o la soppressione di geni coinvolti nella senescenza o nell'apoptosi (morte cellulare programmata). Infine, l'immortalizzazione può essere ottenuta attraverso la fusione di cellule primarie con cellule immortalizzate o cellule tumorali e il trasferimento di fattori immortalizzanti, permettendo alle cellule primarie di bypassare la senescenza e dividersi indefinitamente. L'azienda israeliana Believer Meats, ad esempio, ha pubblicato uno studio su fibroblasti di pollo resi spontaneamente immortali. Queste cellule garantiscono biomasse elevate all'interno del bioreattore e produzioni annuali di 10.000 tonnellate di carne coltivata, un livello superiore alle decine di tonnellate di altre aziende e con una significativa riduzione dei costi [51]. Il Centro per l'Agricoltura Cellulare della Tufts University negli Stati Uniti ha sviluppato e validato un metodo di coltivazione per scopi alimentari di cellule satellite bovino immortalizzate (iBSCs). Questo metodo si basa sull'integrazione trasposonica degli enzimi TERT e CDK4, permettendo oltre 120 duplicazioni e mantenendo la capacità di differenziazione miogenica [52]. Recentemente, la FDA ha pre-autorizzato la carne coltivata di pollo prodotta con fibroblasti immortalizzati tramite l'enzima TERT [53]. L'immortalizzazione cellulare potrebbe sollevare preoccupazioni etiche e di sicurezza riguardo al potenziale di crescita cellulare infinita, una caratteristica distintiva delle cellule tumorali, o a un comportamento cellulare alterato. Nonostante un consenso scientifico informale sulla sicurezza delle cellule immortalizzate, mancano studi sanitari a lungo termine che lo dimostrino. Pertanto, sono in atto rigidi schemi normativi e valutazioni di sicurezza per garantire che le cellule immortalizzate utilizzate nella produzione di carne coltivata siano sicure e non comportino rischi per la salute. La scelta tra l'utilizzo di cellule satellite o linee cellulari immortalizzate nella produzione di carne coltivata dipende da vari fattori, tra cui la scalabilità, l'efficienza e le considerazioni normative. Alcune start-up, come AlephFarms Ltd., stanno escludendo le cellule immortalizzate dalle loro ricette, preferendo cellule staminali embrionali naturalmente immortali per evitare quello che il CEO Didier Toubia definisce un potenziale problema di "accettazione da parte dei consumatori". Tuttavia, questi sviluppi suggeriscono che le cellule geneticamente immortalizzate avranno un ruolo importante nel futuro della carne coltivata [54].

### **Pericoli per la sicurezza alimentare e rischi associati**

Come per ogni processo di produzione alimentare, anche per la carne coltivata la sicurezza deve essere valutata in relazione a pericoli microbiologici, chimici, di stabilità e di qualità e

identità delle linee cellulari, nonché ai rischi associati. Essendo un settore non ancora sviluppato su scala industriale, è caratterizzato da un elevato livello di incertezza, che può essere ridotto attraverso i dati disponibili e studi di valutazione del rischio. Fatta eccezione per alcuni paesi che hanno già predisposto regolamenti specifici per la sicurezza alimentare (ad esempio Singapore, Stati Uniti, Israele, Qatar), il processo autorizzativo e normativo della carne coltivata si presenta lungo e complesso. Ciò è dovuto alla necessità di acquisire maggiori dati e prove sulla sicurezza e qualità del prodotto, oltre alla definizione dei requisiti di etichettatura. Per affrontare le sfide tecnologiche del settore e sviluppare metodi di valutazione del rischio, l'EFSA ha organizzato nel 2023 un Colloquio Scientifico intitolato “*Cell culture-derived foods and food ingredients*”. L'evento, che ha riunito a Bruxelles ricercatori, funzionari di agenzie europee, operatori e gruppi di consumatori, ha permesso di fare il punto su concetti e tecnologie di produzione di alimenti e ingredienti derivati da colture cellulari, fermentazione di precisione e ingredienti alimentari prodotti da cellule microbiche ingegnerizzate. Sono stati inoltre discussi i pericoli per la sicurezza alimentare e gli aspetti metodologici dei sistemi di valutazione del rischio [55]. L'EFSA ha stimato che il completamento dell'iter autorizzativo in Europa per la commercializzazione del primo prodotto a base di carne coltivata richiederà non meno di cinque anni. Considerata la potenziale varietà di processi e prodotti, è indispensabile definire nuovi parametri e obiettivi per valutare la composizione, i materiali di ingresso e i contaminanti. Sarà inoltre necessario sviluppare nuovi metodi analitici o adattare approcci già esistenti per le carni convenzionali, condurre studi sulla shelf-life e disporre di database simili a quelli utilizzati nei settori alimentare e farmaceutico [56]. Nel prossimo futuro, è prevedibile l'intervento del *Codex Alimentarius* per sviluppare linee guida con standard internazionali di sicurezza e qualità. A tal proposito, la FAO/WHO hanno stabilito che, grazie a rigide procedure di controllo del processo produttivo, i rischi per la sicurezza alimentare della carne coltivata associati alla presenza di residui di antibiotici, contaminanti microbiologici (inclusi i patogeni zoonotici) sono sostanzialmente simili a quelli della produzione tradizionale o, in alcuni casi, addirittura inferiori. Il rapporto congiunto identifica 53 pericoli potenzialmente connessi con le quattro fasi della produzione di carne coltivata, i cui rischi devono essere valutati sulla base delle evidenze della loro rilevanza sulla popolazione esposta

### Pericoli microbiologici

È importante notare che, in generale, i pericoli per la sicurezza alimentare presenti negli alimenti a base cellulare non sono dissimili da quelli che si possono riscontrare in alcuni prodotti alimentari convenzionali. I rischi microbiologici nella produzione di carne coltivata sono legati a contaminazione batterica, come *Salmonella*, *Campylobacter* ed *E. coli*, funghi, prioni e/o contaminazione crociata durante

tutto il processo produttivo, in particolare nelle fasi produttive a valle o *downstream* (trasformazione alimentare e stoccaggio), mentre i processi di produzione a monte o *upstream* (coltura cellulare) possono introdurre patogeni non comuni nella produzione alimentare convenzionale, tra cui i micoplasmi, a partire da reagenti, aria e apparecchiature contaminati. Possiamo affermare che i rischi di contaminazione (batterica o fungina) derivano principalmente dal processo (ingredienti, strumentazione, operatori) e meno dalla linea cellulare in sé. Se la carne coltivata viene prodotta da cellule di origine animale ottenute tramite biopsia muscolare, occorre valutare la storia clinica degli animali donatori e lo stato sanitario degli allevamenti di provenienza (es. vaccinazioni, trattamenti) con approcci diversificati a seconda della specie, richiedendo in questo contesto l'*expertise* veterinaria. Infatti, agenti avventizi presenti nell'animale potrebbero essere trasferiti anche nelle cellule isolate. Durante la fase di coltura cellulare, è possibile l'introduzione di patogeni non comuni, come i micoplasmi, derivanti da reagenti contaminati, dall'aria o dalle attrezzature. Nella successiva fase di lavorazione e conservazione, batteri come *Staphylococcus aureus* o *Listeria monocytogenes*, o funghi, possono provenire dagli ingredienti, dagli strumenti o dagli operatori. C'è poi il rischio di contaminazione virale come l'epatite A ed E a partire dalle fonti cellulari, da componenti di origine animale come i terreni contenenti siero fetale bovino, cellule e altri componenti derivati, che rende le cellule vulnerabili in quanto non dispongono di un sistema protettivo immunitario presente invece nell'organismo animale. Sebbene la maggior parte dei virus siano specifici per l'ospite, possono mutare e infettare diversi ospiti. Nell'eventualità di utilizzo di animali esotici per la produzione di carne coltivata si potrebbe ipotizzare il rischio di trasferimento di un virus sconosciuto dalla coltura cellulare all'uomo. Il rischio di trasmissione di cellule infette da virus ad altri ospiti, sebbene presente, può essere significativamente limitato attraverso un rigoroso monitoraggio degli animali di origine e dei tessuti biotici per individuare segni di infezione. Per quanto riguarda il rischio di prioni, è praticamente nullo. Queste particelle infettive sono presenti esclusivamente nel cervello e nel sistema nervoso centrale e sono assenti nel siero o nei tessuti comunemente impiegati dall'industria. Va inoltre sottolineato che la maggior parte del siero bovino fetale (SFB) laddove utilizzato, proviene da regioni prive di casi di BSE (Encefalopatia Spongiforme Bovina). Esistono robuste prove scientifiche, come le Linee Guida WHO del 2006 sulla distribuzione dell'infettività tissutale, che attestano l'impossibilità di trasmissione di TSE (Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili) attraverso il sangue. Sebbene i prioni possano essere teoricamente presenti nei tessuti biotici dell'animale di origine o nel terreno di crescita contenente siero bovino, la loro propagazione può essere efficacemente controllata.

### **Metodi di prevenzione e mitigazione dei pericoli microbiologici**

Diversamente dalle procedure manuali che si applicano alla produzione della carne convenzionale, la tecnologia di automazione del processo di produzione della carne coltivata all'interno di bioreattori si basa su sofisticati sistemi di monitoraggio che consentono di rilevare rapidamente tramite sensori fisico-chimici eventuali condizioni sfavorevoli nelle vasche di coltivazione, inclusi batteri patogeni, ma anche residui di ormoni e antibiotici. A differenza della maggior parte dei produttori di alimenti convenzionali che testano i lotti in modo casuale, questo sistema offre maggiori garanzie poiché esamina ogni singolo lotto, riduce il rischio di contaminazione e aumenta il controllo, la sicurezza e la tracciabilità dei processi. In pratica, il rischio può essere facilmente monitorato utilizzando test per la quantificazione dei farmaci veterinari sulla linea cellulare e sul prodotto finito, ma soprattutto recuperando i dati sanitari degli animali donatori. L'utilizzo della modellazione poi, offre vantaggi sostanziali in termini di riproducibilità, scalabilità e sostenibilità, riduce al minimo le materie prime, gli sprechi, la manipolazione e la dipendenza dall'operatore portando a una maggiore efficienza dei bioprocessi. Il processo, dunque, è progettato per soddisfare rigorosi standard normativi che garantiscono la qualità e la sicurezza. Le preoccupazioni relative alla sicurezza alimentare della carne coltivata si concentrano sia sul prodotto finale che sull'intero processo produttivo. I produttori sono chiamati a identificare accuratamente i passaggi critici del processo, quelli cioè più suscettibili a contaminazioni. Il processo di bioproduzione si articola in due fasi principali che comprendono: l'approvvigionamento delle cellule, la loro espansione e raccolta (upstream) e la lavorazione e formulazione del prodotto (downstream). Ogni passaggio è potenzialmente vulnerabile alla contaminazione da pericoli microbiologici. Nonostante l'introduzione di nuovi input, materiali e attrezzature nella produzione a base cellulare, i metodi di valutazione del rischio per la sicurezza alimentare e le misure di mitigazione rimangono analoghi a quelli impiegati per gli alimenti prodotti convenzionalmente. Tra le strategie di mitigazione efficaci si annoverano il monitoraggio regolare delle colture cellulari attraverso le *Good Cell Culture Practice* (GCCP), la stretta conformità alle Buone Pratiche Igieniche (GHP) lungo l'intero processo produttivo, che include la pulizia e la sterilizzazione delle attrezzature, e la separazione delle aree di produzione, oltre all'adozione delle Buone Pratiche di Fabbricazione (GMP). I sistemi di gestione del rischio HACCP, già ampiamente applicati nell'industria della carne convenzionale, sono altrettanto validi per la carne coltivata. È inoltre essenziale mantenere la sterilità durante il processo, ricorrendo, ad esempio, all'uso di peptidi antimicrobici sintetici. È fondamentale riconoscere che il profilo di rischio e le conseguenti strategie di mitigazione e controllo variano a seconda della specifica fase. Le colture cellulari dovrebbero essere sottoposte a screening regolari in quanto se è vero che vengono tradizionalmente gestite in condizioni

asettiche con minor rischio di contaminazione, i livelli produttivi industriali non offrono le stesse garanzie.

La metagenomica si rileva utile per identificare e caratterizzare il microbiota o un'ampia selezione di agenti patogeni. La scelta del metodo di rilevamento si basa sul target da identificare, carica microbica, velocità di rilevamento, sensibilità del metodo e matrice alimentare [57]. Per ridurre al minimo il rischio di contaminazione crociata tra lotti o linee cellulari diversi, occorre assicurare un'adeguata separazione e isolamento delle stese e delle aree di produzione. L'industria sta sviluppando soluzioni per mantenere la sterilità durante il processo, che includono per esempio peptidi anti-microbici sintetici (studiati anche come conservanti nei cibi). A differenza della carne convenzionale, per la valutazione del rischio microbiologico della carne coltivata, ci sono condizioni che non consentono di definire in modo certo il livello di rischio, quali la mancanza di accesso alle informazioni sui campioni, la carenza di dati di processo, di dati scientifici pubblici e di standardizzazione o convalida dei test esistenti. Questo gap impone la condivisione di banche dati dei settori pubblico e privato e una maggiore collaborazione tra industria, gruppi di ricerca e mondo accademico. Ciò migliorerebbe il processo di identificazione dei pericoli, la valutazione del rischio e la definizione di schemi normativi e standard efficienti, elementi critici per costruire la fiducia dei consumatori [58].

### **Pericoli chimici**

Come per i pericoli microbiologici, l'identificazione e la valutazione dei pericoli chimici (antibiotici, tossine, allergeni) nelle cellule e nel prodotto finito richiedono informazioni complete sui materiali e componenti utilizzati in ciascuna fase, come i certificati di analisi. I pericoli chimici possono provenire dai terreni di coltura e dagli additivi, oppure essere introdotti nella biomassa durante le fasi di coltura, raccolta o lavorazione post-raccolta. Per questo motivo, è fondamentale garantire l'approvvigionamento di ingredienti di alta qualità e l'assenza di contaminanti chimici quali antibiotici, ormoni o metalli pesanti.

### **Additivi e molecole bioattive**

Un'attenta selezione e sperimentazione degli additivi, come i fattori di crescita o i materiali che compongono le impalcature, sono essenziali. Collagene e molecole bioattive (es. ormoni o fattori di crescita), pur essendo presenti nella carne convenzionale, rappresentano un nuovo campo di applicazione nella produzione di carne coltivata come coadiuvanti tecnologici o additivi alimentari. Per le molecole bioattive, sarà necessario valutarne l'attività nei prodotti finiti e dopo il consumo, oppure la loro inattivazione durante la lavorazione, la cottura o la digestione. Per alcune molecole, la letteratura esistente fornisce dati su una soglia sicura per il consumo. Ne è un esempio il fattore di crescita insulino-simile IGF-1 bovino, che può essere utilizzato per la produzione di carne coltivata, essendo già



noto nei prodotti animali convenzionali [59]. Tuttavia, come evidenziato dal Comitato congiunto di esperti FAO/WHO sugli additivi alimentari (JECFA, 1990), l'IGF-1 bovino è strutturalmente identico all'IGF-1 umano ed è probabile che abbia un effetto simile nell'uomo [60]. Tra le sostanze esogene senza precedenti di utilizzo negli alimenti, troviamo i crioprotettori o la molecola SB 203580, un inibitore altamente specifico cruciale nella differenziazione e proliferazione delle cellule staminali nelle produzioni industriali di carne coltivata [61].

I crioprotettori, come inulina, sorbitolo e dimetilsolfossido sono già impiegate nelle carni convenzionali e considerate sicure. Per valutare la sicurezza dei contaminanti chimici, si possono impiegare studi tradizionali basati sul concetto di soglia di preoccupazione tossicologica (TTC) [62] o implementare l'approccio *read-across*. Quest'ultimo fornisce indicazioni su sostanze non ben caratterizzate partendo da sostanze simili e già note. Alcuni materiali utilizzati nell'ingegneria dei tessuti sono già autorizzati per applicazioni cliniche, ma mancano dati di sicurezza per elevati livelli di consumo. Per molte molecole bioattive, non esistono studi sul loro uso negli alimenti né informazioni tossicologiche o valutazioni del rischio relative a potenziali effetti autoimmunitari. Un esempio è il rosso fenolo (fenoltaleina), un additivo comunemente usato come indicatore di pH nei terreni di colture cellulari, ma non autorizzato come additivo alimentare a causa di reazioni allergiche e potenziale cancerogenicità per l'uomo [63]. I *microcarrier* riutilizzabili potrebbero introdurre contaminanti chimici nel processo attraverso residui dei processi di sterilizzazione e/o degradazione nel tempo (es. tossicità, digeribilità), oppure tramite migrazione nel prodotto dal materiale di contatto, alterando la composizione della biomassa raccolta. Per alcuni nuovi materiali, come i biomateriali polimerici che costituiscono le impalcature, mancano informazioni chiare sulla potenziale tossicità o allergenicità associate ai prodotti di degradazione [64]. Il collagene, spesso usato per la generazione di impalcature, è ricco dell'aminoacido glicina che può provocare effetti collaterali per il consumatore. Il potenziale pericolo allergenico può derivare anche da nuove proteine risultanti da espressioni genetiche; in questi casi, studi di *read-across* o altri test in vitro/in silico possono fornire informazioni sulla predizione allergenica. Per gli aspetti tossicologico-nutrizionali, gli studi sulla tossicità animale a 90 giorni (90 D) dovrebbero essere ridotti o evitati. Si dovrebbero invece utilizzare approcci come l'analisi omica mirata dei terreni successiva alla raccolta della biomassa e altre metodologie, o i Nuovi Approcci Metodologici (NAMs) che non prevedono l'uso di animali e facilitano la valutazione tossicologica e allergenica di componenti, materiali e sottoprodotti. Infine, la presenza di allergeni non presenti nei prodotti convenzionali di origine animale può porre un problema di etichettatura. Altri problemi per la sicurezza sono legati al riciclo dei terreni o alle produzioni a elevata densità cellulare, che possono causare un accumulo di componenti o di sottoprodotti metabolici come l'ammoniaca e i lattati. Questi cataboliti tossici sono in grado di rallentare la crescita

cellulare anche a basse concentrazioni, come accade nella produzione di biofarmaci. L'accumulo riguarda anche i residui di eventuali prodotti chimici o sostanze usate durante il processo di produzione, quali disinfettanti, detergenti o solventi, che dovrebbero essere scelti con cura e adeguatamente rimossi per prevenirne la presenza nel prodotto finito.

### **Gestione degli antibiotici**

Nel caso degli antibiotici come penicillina, streptomina e gentamicina comunemente usati nelle colture cellulari per prevenire le infezioni, il loro utilizzo nelle carni coltivate è spesso limitato alla fase di sviluppo delle linee cellulari, dopodiché è prevista una loro diluizione a livelli sicuri. Se utilizzati nelle fasi successive del processo, la loro presenza indica controlli insufficienti o carenti con il rischio del superamento dei livelli soglia nel prodotto finito. È necessario comprendere il rischio di esposizione ai residui di antibiotici, ma anche di fungicidi. Questo aspetto richiede l'elaborazione, da parte delle agenzie di regolamentazione, di linee guida sull'uso sicuro degli antibiotici (es. dati tossicologici, metodi analitici) basate sull'esperienza acquisita per le carni convenzionali. Un nuovo studio israeliano del 2025 (con il sostegno di GFI) propone un'alternativa all'impiego di antibiotici: l'utilizzo di miscele casuali di peptidi antimicrobici (RPM). I risultati dello studio dimostrano che le RPM sono efficaci nei confronti di *E. coli* e *L. monocytogenes* nelle colture cellulari testate e non pongono rischi per il microbioma umano grazie alla rapida digestione da parte dell'organismo. Per la gestione dei pericoli chimici, gli organismi regolatori e le organizzazioni di settore devono promuovere e sviluppare linee guida e standard di sicurezza alimentare e di qualità durante l'intero processo produttivo. La tabella 3 riassume gli elementi e le condizioni che richiedono un'ulteriore valutazione del rischio.

### **Purificazione del prodotto ed endotossine**

Una fase critica nel processo di produzione di carne coltivata è la purificazione, che prevede la riduzione/rimozione delle endotossine. Queste, note anche come lipopolisaccaridi, sono ubiquitarie nell'ambiente e nell'acqua di rubinetto. Le endotossine vengono rilasciate durante la crescita batterica e in grandi quantità con l'inattivazione. La loro presenza nelle colture cellulari può avere un'ampia varietà di effetti: ad esempio, è emerso che a una concentrazione di appena 1 ng/ml, i tassi di successo della gravidanza si riducono di 3-4 volte durante la fertilizzazione in vitro di ovociti [65]. La fase di purificazione incide notevolmente in termini di risorse e impatto ambientale, specialmente nel caso di livelli produttivi elevati, come quelli associati all'utilizzo di grandi bioreattori.

### **Prevenzione dei pericoli chimici**

I pericoli chimici possono presentarsi come contaminanti nel tessuto di origine utilizzato per la raccolta delle cellule e,



**Tabella 3. Elementi e condizioni di produzione di carne coltivata che richiedono ulteriore valutazione del rischio**

Terreni utilizzati per la crescita cellulare	Diversa composizione e con componenti derivati da varie fonti alternative all'uso del siero animale fetale
Componenti e loro destino nel processo	Valutazione di sostanze presenti nelle fasi iniziali del processo ed eventualmente assenti o presenti in concentrazioni molto basse in quelle finali o nel raccolto della biomassa
	Fasi del processo che garantiscono la rimozione di sostanze indesiderate o non necessariamente destinate alla produzione alimentare (es. fattori di crescita, antimicrobici)
	Presenza di molecole che inducono la differenziazione cellulare (es. sostanze naturali presenti negli animali o composti usati come fattori di stress chimico) che possono condizionare il comportamento delle cellule e/o attivare pathways di espressione di cellule dormienti
	Introduzione di potenziali nuovi pericoli/rischi legati alla produzione su scala industriale in combinazione con gli sforzi di riduzione dei costi: es. riciclo dei materiali in ingresso e purificazione dei terreni, utilizzo degli antimicrobici e possibili alternative
	Impalcature riutilizzabili che potrebbero introdurre contaminanti chimici nel processo
	Residui dei processi di sterilizzazione e/o degradazione nel tempo (es. tossicità, allergenicità, digeribilità)
	Migrazione nel prodotto del materiale di contatto che potrebbe effettivamente influire sulla composizione della biomassa raccolta

potenzialmente, nel prodotto finale. Questa eventualità si verifica solo se la sostanza è inizialmente presente nel tessuto campionato e successivamente persiste nella coltura cellulare per l'intero ciclo produttivo, raggiungendo infine il prodotto finale a una concentrazione superiore al livello massimo di sicurezza. Tuttavia, questo rischio può essere facilmente monitorato attraverso diverse strategie. È possibile utilizzare test specifici per la quantificazione dei farmaci veterinari sia sulla linea cellulare che sul prodotto finito. Ancora più importante, è fondamentale consultare i dati sanitari degli animali di origine al momento della biopsia tissutale.

### Pericoli mutageni

La mutagenesi, definita come l'induzione di cambiamenti nella sequenza del DNA di un organismo, è un aspetto cruciale per le linee cellulari utilizzate nella produzione di carne coltivata. È fondamentale che queste linee cellulari mantengano nel tempo le loro caratteristiche genetiche e fisiologiche per garantire prestazioni produttive uniformi [66].

### Stabilità genetica delle linee cellulari e rischi associati

Per assicurare un'ampia proliferazione e, allo stesso tempo, eliminare la variabilità tra i lotti di linee cellulari, si ricorre all'uso di cellule staminali pluripotenti o di cellule immortalizzate. Sebbene il processo di produzione della carne coltivata non implichi l'introduzione deliberata di agenti mutageni o modificazioni genetiche, è possibile che stimoli fisici e biochimici durante la coltura, unitamente a tempi di coltura prolungati con un elevato numero di divisioni cellulari, causino mutazioni accumulate nel DNA. Questo può comportare un potenziale rischio di: instabilità del genoma, deriva (epi)genetica delle

linee cellulari, formazione di cellule cancerose all'interno della coltura, che potrebbero non essere facilmente identificabili. Queste alterazioni possono indurre cambiamenti fenotipici e la sintesi di proteine o metaboliti indesiderati, incluse potenziali tossine e allergeni. Di conseguenza, dopo diverse subcolture e passaggi, le linee cellulari possono divergere dalla sequenza genetica originale, manifestando morfologie e comportamenti cellulari diversi. È stato inoltre osservato che diverse specie di *Mycoplasma* spp. possono compromettere la stabilità genetica delle linee cellulari in una percentuale significativa di casi (dal 5% al 35%), sia con una singola specie che con più specie. I micoplasmi, pur non causando torbidità nella coltura, possono alterare i tassi di crescita (rallentandoli), modificare il metabolismo e la fisiologia cellulare, e causare aberrazioni cromosomiche [67].

### Rischio per i consumatori e sicurezza

Per quanto riguarda le preoccupazioni sulle modificazioni genetiche, è altamente improbabile che eventuali cellule precancerose o cancerose, essendo non umane, possano replicare all'interno del corpo umano. Basandosi su scarse evidenze relative agli alimenti OGM [68], è estremamente improbabile sia l'integrazione del DNA delle cellule nel genoma del consumatore, sia il trasferimento orizzontale del DNA nei batteri intestinali [69]. La FAO/WHO ha respinto le preoccupazioni su un possibile rischio di tumori, definendo "altamente improbabile" la sequenza di eventi che consentirebbe a cellule satellite bovine pluripotenti o immortalizzate, potenzialmente cancerogene o precancerose, di sopravvivere alle fasi di raccolta, maturazione/stoccaggio, cottura e digestione, superare la parete intestinale e formare tumori dopo il consumo [70]. Va notato che il rischio di

alterazioni genetiche non è esclusivo degli alimenti a base cellulare, ma è presente anche nelle procedure di riproduzione o clonazione convenzionali, nelle terapie cellulari e nelle industrie biosimilari. Inoltre, materiale genetico e prodotti di degradazione sono già presenti negli alimenti convenzionali e non sono considerati pericolosi.

### **Misure di controllo e ricerca futura**

La carne coltivata viene prodotta in un ambiente di laboratorio controllato, dove le condizioni di crescita, l'apporto di nutrienti e i terreni di coltura sono attentamente regolati. Questo approccio mira a minimizzare il rischio che fattori esterni, come la selezione naturale o le pressioni ambientali, possano influenzare i cambiamenti genetici all'interno della popolazione cellulare.

La potenziale presenza di oncogeni nelle cellule immortalizzate tramite processi spontanei o di ingegneria genetica, sebbene considerata un rischio relativamente basso rispetto ai metodi tradizionali di modificazione genetica, rappresenta una sfida attuale per i ricercatori. Questo richiede un'attività di monitoraggio costante, come per qualsiasi tecnologia emergente. Il settore impegna i ricercatori e gli organismi regolatori nella valutazione della stabilità genetica e della sicurezza per i consumatori, mentre i produttori sono impegnati nel monitoraggio dei rischi associati alla deriva genetica o ai cambiamenti genetici involontari. È inoltre fondamentale la creazione e il mantenimento di banche cellulari (*biorepository*). Per queste, possono essere utilizzate le tecnologie e le linee guida in uso nel settore farmaceutico, opportunamente adattate e standardizzate per la produzione alimentare.

La ricerca futura dovrà concentrarsi sulle seguenti attività:

- screening a livello genomico di mutazioni o cambiamenti cellulari (es. valutazione della stabilità genetica e fenotipica mediante tecniche molecolari come il cariotipo), proteomico o metabolomico per la sintesi di metaboliti pericolosi o allergeni;
- controlli di qualità delle banche contenenti linee cellulari crioconservate per mitigare il rischio di deriva genetica e di presenza di virus, batteri, lieviti e micoplasmi; sviluppo di metodi specifici;
- definizione dei limiti di sicurezza dei passaggi in coltura e dei parametri per monitorare la stabilità cellulare;
- reazione e condivisione di database accessibili (democratizzazione delle linee cellulari) che generino informazioni sul potenziale di deriva genetica.

Tutte queste attività sono essenziali per definire i requisiti di sicurezza di un prodotto in relazione a caratteristiche come il tipo di cellule, la deriva genetica, il fenotipo cellulare, le proteine espresse e la composizione.

### **Il profilo nutrizionale**

Se il regolamento (CE) 2015/2283 stabilisce che i *Novel food* non dovrebbero essere svantaggiosi dal punto di vista nutrizionale, il successo della carne coltivata dipenderà prin-

cipalmente dal grado di somiglianza/imitazione con quella convenzionale rispetto sia agli attributi organolettici come sapore, aspetto, colore, consistenza e succosità che svolgono un ruolo importante per l'accettazione da parte del consumatore, che a quelli nutrizionali determinati anche dalla composizione dei terreni e utilizzo di nutrienti da parte delle cellule nel corso del processo. Sulla base dello stato dell'arte dei processi produttivi e considerato che l'ambiente delle cellule in coltura e il loro stato di differenziazione differiscono da quello delle cellule contenute nella carne, si può dedurre che attualmente la carne coltivata differisce in modo significativo da quella tradizionale nelle sue proprietà tecnologiche, sensoriali e nutrizionali, come ad esempio il profilo amminoacidico e digeribilità. Attualmente mancano prototipi di carne coltivata disponibili per una valutazione tecnologica, sensoriale (consistenza, colore, sapore e aspetto nutrizionale) e occorrono ulteriori ricerche prima che la sua composizione possa assomigliare a quella tradizionale.

Uno delle sfide tecnologiche per la produzione di carne coltivata completamente strutturata è la mancanza di alcuni passaggi critici del processo post-mortem che avvengono durante la conversione del muscolo in carne e che hanno effetti importanti sugli attributi organolettici della carne, come il calo del pH dovuto alla glicolisi post mortem, il rigor mortis, e la sua risoluzione, l'attivazione delle catepsine e la maturazione [71]. Per migliorare la qualità tecno-funzionale delle proteine della carne potrebbe essere necessaria la stimolazione elettrica/meccanica, una soluzione che soprattutto su larga scala richiederà la valutazione della fattibilità tecnologica ed economica inclusa l'impronta ambientale [72]. Inoltre, oltre alle fibre muscolari, la carne convenzionale comprende vari altri tessuti come tessuto adiposo, tessuto nervoso, tessuto epiteliale e tessuti circolatori in varie concentrazioni. Nella carne coltivata questi tessuti attualmente mancano. Sono attualmente in corso lavori di ricerca in tutto il mondo basati sulla co-coltura di mioblasti con fibroblasti e condrociti (per lo sviluppo del tessuto connettivo), cellule endoteliali (per lo sviluppo del sistema circolatorio/vascolarizzazione) e adipociti (tessuto adiposo) responsabili del colore, consistenza, succosità e sapore della carne. Per assicurare lo stesso colore rosso c'è l'alternativa dell'incorporazione durante la coltura dell'eme di origine vegetale e fortificazione con il ferro. Tra i vantaggi della carne coltivata c'è la possibilità di ottimizzarla sotto il profilo sensoriale e nutrizionale con la semplice aggiunta di ingredienti testurizzanti, coloranti, aromi e sostanze nutritive e superare le differenze esistenti di composizione rispetto a quella convenzionale. La carne è ricca di acidi grassi saturi, come l'acido stearico, palmitico e laurico, questi ultimi due responsabili dell'aumento delle concentrazioni di colesterolo nel sangue, ma povera di acidi grassi polinsaturi (es. omega 3 e 6) che invece, riducono i livelli di colesterolo e con essi il rischio di insorgenza di malattie cardiovascolari. Per andare incontro alle esigenze dietetiche dei nuovi consumatori più attenti, il profilo nutri-

zionale può essere migliorato riducendo il contenuto in grassi saturi e aumentando quelli polinsaturi, oppure aggiungendo la vitamina B12 (fortificazione), vitamina D e ferro [73]. Le ricerche sui consumi a lungo termine potranno eventualmente segnalare esiti nutrizionali avversi come carenze o eccesso di vitamine. In assenza di un processo di produzione definito e apertamente comunicato, è attualmente impossibile valutare tutte le potenziali problematiche legate agli aspetti sensoriali e al valore nutrizionale dei prodotti a base di carne coltivata che entreranno sul mercato nei prossimi anni. Tutti gli aspetti di sicurezza e qualità richiederanno l'elaborazione di criteri e metodi di analisi specifici e parametri nutrizionali anche ricorrendo al *Codex General Standard* per gli additivi alimentari o standard di identità. Per quanto riguarda l'impostazione degli studi di intervento sull'uomo, si fa notare, come ricordato in precedenza, come l'EFSA non sia responsabile della definizione dei protocolli di studio che dovranno essere definiti dalle aziende che richiedono l'autorizzazione dei loro prodotti, sebbene alcune informazioni pertinenti siano reperibili nel documento EFSA sulle linee guida sui nuovi alimenti. In alcuni casi, l'EFSA ha richiesto ai richiedenti di condurre studi sull'uomo per affrontare questioni specifiche che erano critiche per la valutazione; ad esempio, quando gli effetti osservati negli studi sugli animali non potevano essere facilmente/significativamente estrapolati all'uomo. Nel contesto della valutazione del rischio dei nuovi alimenti, l'EFSA ha valutato diverse tipologie di studi sull'uomo (pre-clinical and clinical test) presentati dai richiedenti o forniti su richiesta dell'EFSA stessa.

Tra questi figurano, ad esempio, studi clinici interventistici, studi osservazionali, studi di tollerabilità e studi farmacocinetici. Naturalmente, l'impatto di ciascun studio sulla conclusione complessiva della valutazione del rischio dipende da fattori quali la qualità dello studio, il disegno e gli aspetti indagati.

### Strategie alternative di efficienza energetica

I sistemi di allevamento intensivo legati al comparto carne (soprattutto quella rossa) sono processi ad alta intensità energetica e a causa di enormi quantità di terreno per il pascolo, produzione di mangimi, infrastrutture, acqua potabile e pulizia, sono fortemente impattanti in termini di emissioni climalteranti e non possono più essere considerati sostenibili ed efficienti. Più di tre quarti dei terreni agricoli mondiali sono utilizzati per l'allevamento, per produrre solo il 18% delle calorie che consumiamo a livello globale [74]. Inoltre, secondo la FAO, l'allevamento ha un impatto pesante sull'ambiente, contribuendo al 14,5% delle emissioni di gas serra antropogeniche, principalmente attraverso il metano rilasciato dagli animali e l'anidride carbonica emessa durante la produzione e trasporto dei mangimi [75]. Il metano è chiamato super gas serra in quanto intrappola il calore nella atmosfera 84 volte più efficacemente dell'anidride carbonica, ma persiste

nell'atmosfera per un tempo molto più breve. La carne è anche responsabile di quasi il 60% di tutte le emissioni di gas serra derivanti dalla produzione alimentare a livello globale [76]. L'agricoltura convenzionale non può essere estesa all'infinito (lo spazio è limitato) senza aggravare il degrado ambientale, esaurire le risorse e creare disuguaglianze globali e problemi etici insostenibili. Occorre tuttavia sottolineare come l'agricoltura convenzionale e l'industria zootecnica siano oggi centrali e stiano compiendo sforzi notevoli per esplorare percorsi diversi verso sistemi di produzione alimentare sostenibili con un impatto ambientale inferiore. Diversamente, la carne coltivata ha il potenziale di emettere meno gas serra, richiede meno terreno e acqua e viene prodotta in ambienti controllati costituiti da laboratori o bioreattori per fornire i nutrienti necessari per la crescita delle cellule. Inoltre, riduce l'utilizzo dei mangimi di mais o soia necessari per nutrire gli animali e le risorse significative per la coltivazione, il trasporto e la lavorazione, contribuendo anche alla riduzione della deforestazione. L'industria della carne coltivata per affrontare sfide economiche, tecnologiche e sociali è fortemente impegnata nello sviluppo di strategie volte a migliorare l'efficienza energetica e a ridurre le emissioni di carbonio del processo produttivo. Un ostacolo principale è il costo elevato dei terreni di coltura, che contengono ingredienti di tipo farmaceutico, fattori di crescita e proteine ricombinanti. Le voci di costo più critiche riguardano i bioreattori, i terreni di coltura contenenti siero, albumina, fattori di crescita. I bioreattori, tradizionalmente costosi a causa del loro impiego nel settore biofarmaceutico, richiedono ottimizzazioni specifiche per la produzione di carne coltivata. Per essere un'alternativa praticabile alla carne convenzionale e per consentire lo "scale-up", l'agricoltura cellulare richiede un'analisi costo-efficacia dei materiali e l'ottimizzazione delle formulazioni dei terreni per massimizzare la produzione e consolidare le filiere di approvvigionamento. Questo include l'adozione di fonti energetiche rinnovabili, l'impiego di attrezzature ad alta efficienza energetica, l'ottimizzazione dei processi produttivi e l'applicazione dei principi dell'economia circolare, supportati da analisi del ciclo di vita (LCA). Il superamento di barriere tecniche ed economiche, insieme alla riduzione dei costi nelle diverse fasi produttive (es. terreni, apparecchiature e reattori di perfusione), è fondamentale per abbassare significativamente il prezzo finale della carne coltivata.

### Punti chiave sull'efficienza energetica e l'impatto ambientale

Negli ultimi anni sono state sviluppate le conoscenze volte a migliorare l'efficienza energetica e la sostenibilità della produzione di carne coltivata ma sono necessari studi più approfonditi sulla sostenibilità e sull'impatto ambientale legati alla produzione su scala industriale. I critici della carne coltivata sostengono che i laboratori di coltura cellulare sono energivori e, se alimentati da combustibili

fossili, hanno un'impronta di carbonio maggiore rispetto alla produzione della carne convenzionale. Per ottenere stime preliminari dell'energia e delle emissioni di gas a effetto serra associati alla produzione di carne coltivata, vengono condotti studi di valutazione del ciclo di vita (Life cycle assessment o LCA) nelle diverse fasi produttive, partendo da ipotesi riguardanti la progettazione dei bioreattori, le materie prime, la composizione e la quantità dei terreni nutritivi con differenze significative tra le diverse tipologie di carni [77, 78]. La valutazione LCA può aiutare a identificare le aree con elevate emissioni di carbonio e guidare gli sforzi per ridurle puntando su fasi specifiche della produzione con maggiore impatto ambientale. Lo studio TEA (*Tecno-Economic Assessment*) condotto nel 2021 da CE Delft, ha stimato i costi futuri di produzione della carne coltivata. L'analisi mostra come gli attuali costi di produzione della carne coltivata sono superiori di un ordine di grandezza da 10 a 100 come valori di riferimento ai prodotti a base di carne tradizionali, a seconda dei requisiti per i componenti dei terreni, in particolare il prezzo dei fattori di crescita e delle proteine ricombinanti [79]. Tuttavia, con il superamento di una serie di barriere tecniche ed economiche e la combinazione delle riduzioni ottenibili per le diverse fasi produttive (es. costi delle apparecchiature e reattori di perfusione) è possibile ottenere una riduzione del prezzo di produzione di carne coltivata di 4.000 volte: da oltre 10.000 dollari al kg a circa 2,50 nei prossimi nove anni [80]. Le critiche segnalano previsioni dei costi non realistiche, aspetti chiave del processo di produzione non ben definiti, sottovalutazione della spesa e complessità della costruzione di una struttura adeguata [81]. I risultati di alcuni studi LCA su cui pesano livelli elevati di incertezza sono stati analizzati da CE Delft, GFI e GAIA in una recente pubblicazione [82] che utilizza anche i risultati del precedente studio TEA del 2021. Lo studio considera diversi fattori di riduzione dei costi come l'efficienza energetica, la selezione delle fonti energetiche, l'uso efficiente dei terreni e la collaborazione dei soggetti della filiera di approvvigionamento. Sebbene vengano fornite stime prudenti che considerano livelli elevati di consumo energetico per il raffreddamento dei bioreattori che gli studi precedenti non avevano considerato, e l'incertezza nel processo di produzione, i risultati indicano che, rispetto alle carni convenzionali, la carne coltivata (bovino, suino, pollo) presenta vantaggi ambientali, utilizza meno terreno e produce meno emissioni. Inoltre, quando si utilizza energia rinnovabile l'impronta di carbonio si riduce notevolmente rispetto agli ambiziosi benchmark di produzione della carne bovina convenzionale (riduzione del 92%) e suino (44%) e paragonabile nel caso di carni di pollame (3%). I risultati, più attendibili, in quanto comprendono le spese energetiche, indicano che il valore oscilla tra 13,6 kg di CO<sub>2</sub> per kg di prodotto artificiale in caso di utilizzo di energia convenzionale, e 2,5 kg di CO<sub>2</sub> in caso di utilizzo di energie

rinnovabili. Per le tre specie: bovino, suino e pollame, si riduce oltre la metà l'uso del suolo e dell'acqua. Il risparmio del suolo in virtù dei terreni che potrebbero essere liberati e utilizzati per il rimboschimento può mitigare i cambiamenti climatici (consente alla natura di rigenerarsi e assorbire più anidride carbonica), sostenere la biodiversità e fornire benefici sociali e ambientali. Le emissioni per kg di proteine di carne coltivata potrebbero essere addirittura inferiori a quelle delle proteine vegetali e degli insetti [83]. Secondo studi più recenti, solo il consumo di elettricità è paragonabile (e comunque inferiore) a quello necessario per allevare polli, ma tutti gli altri indici di impatto ambientale (suolo, acqua, emissioni, liquami) sono stabilmente attestati attorno a -80/-90% rispetto agli allevamenti tradizionali. Molti degli studi più citati (ad esempio, quelli di CE Delft per il GFI) sono "ex-ante", il che significa che modellano scenari futuri (spesso al 2030) basandosi su proiezioni di miglioramenti tecnologici e sull'adozione di energie rinnovabili. La mancanza di impianti di produzione su vasta scala rende difficile raccogliere dati primari completi. Sebbene siano preziosi per guidare la ricerca e gli investimenti, contengono ancora delle incertezze. Da una ricerca recente condotta presso l'Università di Bath nel Regno Unito è emerso che manipolando i fattori di crescita e le condizioni nutrizionali di cellule staminali di suini e bovini è possibile ottimizzare la crescita e lo sviluppo delle cellule muscolari e aumentare in modo significativo la resa della carne coltivata con consistenza e gusto paragonabili a quelli della carne prodotta convenzionalmente. I ricercatori hanno sperimentato diversi fattori di crescita e nutrienti ed esplorato l'uso di impalcature e bioreattori per supportare la crescita del tessuto muscolare con risultati consistenti in una impronta di carbonio significativamente inferiore rispetto all'allevamento tradizionale. Ma ci sono anche dati discordanti. Secondo uno studio del 2019 la carne coltivata a primo impatto non è climaticamente superiore a quella convenzionale: in alcuni casi e a lungo termine l'allevamento causa molto meno riscaldamento, poiché le emissioni di metano non si accumulano a differenza dell'anidride carbonica derivante dalla carne coltivata, che persiste e si accumula anche con un consumo ridotto [84]. Fa eco uno studio in pre-print di LCA dell'Università di Davis in California che utilizza modelli di stima economiche TEA molto più accurati di quelli impiegati nelle precedenti pubblicazioni con una valutazione decisamente superiore dell'impatto della carne artificiale sull'ambiente [85]. Rispetto alle precedenti analisi lo studio rileva che l'inclusione del processo di purificazione delle endotossine e raffinazione dei terreni di coltura, non analoghe a quella dell'industria farmaceutica, costituisce una voce di costo economico e ambientale rilevante che può compromettere la sostenibilità futura con livelli di emissione che vanno da un minimo di 246 a un massimo di 1.508 di CO<sub>2</sub> e per kg di prodotto, da 4 a 22 volte superiore alla carne convenzio-



nale riferita a emissioni per kg di carne bovina disossata, libera da grasso, con aggiunta di frattaglie. Un lavoro del 2015 giunge alle stesse conclusioni: la carne coltivata ha un'impronta di carbonio circa cinque volte superiore a quella della carne di pollo e dieci volte superiore rispetto alle carni lavorate a base vegetale [86].

In sintesi, gli studi più recenti sull'efficienza energetica della carne coltivata evidenziano i seguenti aspetti:

- intensità energetica elevata ma con potenziale di miglioramento: la produzione è attualmente energivora, soprattutto per l'elettricità nei bioreattori e la produzione del mezzo di coltura. Tuttavia, la ricerca concorda sul notevole potenziale di miglioramento tramite fonti rinnovabili e ottimizzazione dei processi;

- dipendenza dal mix energetico: l'impronta di carbonio della carne coltivata varia significativamente in base al mix energetico utilizzato. Con fonti rinnovabili (eolico, solare), l'impronta può essere inferiore a quella del manzo convenzionale e competitiva con quella del pollo. Con l'attuale mix energetico globale (che include combustibili fossili), l'impronta può essere superiore a quella di suino e avicolo, ma rimane inferiore a quella bovini;

- terreni di coltura: la produzione dei terreni di coltura è una fase cruciale e spesso energivora. L'ottimizzazione della sua composizione, la riduzione delle quantità necessarie e l'approvvigionamento sostenibile degli ingredienti sono fondamentali per l'efficienza complessiva;

efficienza dei bioreattori: migliorare la densità cellulare, ridurre i carichi di raffreddamento e ottimizzare i processi di proliferazione e differenziazione delle cellule sono obiettivi chiave per l'industria;

- integrazione nella catena di approvvigionamento: le collaborazioni lungo la catena di approvvigionamento sono essenziali per garantire materie prime più sostenibili e processi più efficienti;

- potenziale di sostenibilità: la carne coltivata ha un enorme potenziale per superare la carne convenzionale in termini di sostenibilità ambientale ed efficienza energetica, soprattutto se la produzione si basa su energie rinnovabili e vengono implementate le ottimizzazioni di processo previste. L'attenzione si sta spostando sempre più sulla necessità di migliorare l'efficienza dei bioreattori e la sostenibilità dei mezzi di coltura. In sintesi, tra le strategie principali per ridurre il consumo energetico e le emissioni di carbonio vi sono:

- transizione a fonti di energia rinnovabile: l'utilizzo di energia solare, eolica o idroelettrica può diminuire drasticamente l'impronta di carbonio;

- utilizzo di apparecchiature ad alta efficienza energetica: l'impiego di tecnologie a basso consumo energetico, come l'illuminazione a LED e elettrodomestici ad alta efficienza, contribuisce a ottimizzare i consumi;

- ottimizzazione dei processi: il controllo della temperatura e la gestione del consumo idrico sono aree chiave per l'efficienza;

- compensazione delle emissioni residue: per le emissioni non

eliminabili, l'industria può investire in progetti di riforestazione, iniziative di energia rinnovabile o acquistare crediti di carbonio;

- economia circolare: il riciclo e il riutilizzo di materiali e sottoprodotti, insieme all'ottimizzazione dell'utilizzo dei nutrienti, riducono gli sprechi e massimizzano l'efficienza delle risorse.

### *Voci di costo per la produzione di carne coltivata*

Attualmente, sulle voci di costo per la produzione di carne coltivata, pesano i terreni di coltura cellulare per la presenza dei fattori di crescita e proteine ricombinanti che servono una varietà di funzioni critiche nel metabolismo, trasporto e apporto di nutrienti e altre macromolecole e controllo delle attività cellulari. I terreni di coltura incidono in modo significativo sul potenziale di riscaldamento globale complessivo (GWP) e sui costi di produzione di carne coltivata che si stima potrebbe essere del 55–95% [87]. Di recente per un sistema di produzione di carne coltivata di *Zebra fish* è stato proposto un approccio basato sull'intelligenza artificiale per ottimizzare contemporaneamente il GWP, il costo e il tasso di crescita cellulare con una formulazione di terreni di coltura a siero ridotto [88]. Tra i principali fattori di crescita e proteine ricombinanti troviamo: il fattore di crescita dei fibroblasti 2 (FGF2 o FGF basico), il fattore di crescita epidermico (EGF), il fattore di crescita insulino-simile 1 (IGF1), la neuregulina 1 (NRG1), il fattore di crescita trasformante beta (TGFβ1 o β3), subunità B del fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGFB), albumina sierica e transferrina. L'albumina e la transferrina sono proteine del plasma sanguigno che svolgono un ruolo importante nel trasporto e nell'erogazione di nutrienti e altre macromolecole. Una recente ricerca ha dimostrato come gli isolati proteici delle torte pressate di colza all'olio di Stiriano si comportano in modo paragonabile all'albumina sierica umana con nessuna differenza significativa, quando liofilizzati o addirittura essiccati a spruzzo, a condizione che la fase di concentrazione sia omessa [89]. Le altre proteine sono fattori di crescita canonici che controllano le funzioni cellulari attraverso vie di trasduzione del segnale. Le forniture attuali dei fattori di crescita possono costare migliaia di dollari al grammo perché prodotti di nicchia realizzati in piccole quantità e secondo rigidi standard farmaceutici. I fattori di crescita ricombinanti, come il fattore di crescita insulino-simile (IGF) o il fattore di crescita epidermico (EGF) vengono prodotti mediante tecniche biotecnologiche per stimolare la proliferazione cellulare e renderle simili alle molecole di segnalazione naturali presenti nel siero fetale bovino. Il fattore di crescita TGF-β, ad esempio ha un prezzo di diversi milioni di dollari al grammo, mentre l'insulina e transferrine proteine ricombinanti 1000 dollari/grammo [90]. Tuttavia, grazie alle attuali innovazioni tecnologiche è possibile sintetizzare prodotti meno costosi e più efficaci. Il costo più basso in assoluto per la produzione dei fattori di crescita può arrivare a 0,10 dollari al grammo. Riducendo il costo di questi input, quello della carne coltivata

può scendere di quasi il 90% [91]. Un recente rapporto di GFI fornisce alcune indicazioni per superare queste ostacoli attraverso il modellamento delle quantità di fattori di crescita specifici e proteine ricombinanti necessari per sostenere lo sviluppo dell'industria della carne coltivata. Sulla base dei calcoli effettuati, sostituire una frazione dell'1% del mercato globale di carne convenzionale con carne coltivata potrebbe richiedere milioni di chilogrammi di proteina ricombinante dell'albumina, un volume di gran lunga superiore a quelli attuali di produzione per la ricerca biomedica e industria farmaceutica e con costi elevatissimi [92].

### **Riduzione dei costi**

È possibile ridurre i costi attraverso diverse soluzioni: selezione di ingredienti a costo inferiore, riduzione delle quantità di terreni di coltura necessari, fattori di crescita alternativi meno costosi, sviluppo di nuove formulazioni di terreni che, tramite la modellazione delle vie metaboliche, consentano una crescita cellulare efficiente, sostituzione dei componenti farmaceutici con quelli di qualità alimentare o per mangimi (*"food-feed grade"*), esplorazione di fonti proteiche alternative, come quelle ottenibili con l'uso della luce (es. piattaforme fotomolecolari), riciclo dei fattori di crescita con sistemi che riutilizzano i fattori di crescita già impiegati dalle cellule in coltura, ingegnerizzazione delle linee cellulari per ridurre i rapporti di conversione dei terreni e gli sprechi (lattato e ammoniaca), adattamento delle linee cellulari (es. cellule immortalizzate, come i fibroblasti di pollo) in terreni con poco siero o privi di siero *"serum-free"*, impiego di terreni di crescita a base vegetale, in particolare isolati proteici di colza [93], proteine di soia, proteine di piselli ed estratti di alghe che forniscono aminoacidi essenziali, vitamine e minerali.

Una soluzione significativa per la riduzione dei costi proviene dai laboratori del *Tufts University Center for Cellular Agriculture* (TUCCA). I ricercatori hanno modificato cellule staminali muscolari bovine in modo che producano autonomamente il proprio fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), stimolando la crescita delle cellule muscolari scheletriche [94]. Per ridurre i costi, è cruciale evitare l'uso di componenti di derivazione animale per la differenziazione delle cellule satellite in fibre muscolari mature. L'impiego di sieri fetali, come il siero fetale bovino (FBS), è problematico per i costi elevati (spesso oltre 1.000 dollari al litro), la variabilità da lotto a lotto, la presenza di endotossine e le implicazioni etiche. Tra le alternative ai sieri animali, nuove tecnologie stanno emergendo per consentire lo sviluppo *serum-free* dei miociti. Tra queste, i terreni artificiali Essential8 (E8®) e Beefly-9, che contengono fattori di crescita derivanti da batteri, lieviti o alghe geneticamente modificati, o l'ottimizzazione di terreni chimicamente definiti utilizzando fattori di crescita espressi in modo ricombinante e altre proteine essenziali [95]. La start-up ceca Mewery sta esplorando una tecnologia che sostituisce il siero fetale bovino basandosi sulla co-coltivazione di alghe e

cellule animali nello stesso bioreattore, utilizzando fattori di crescita di microalghe ingegnerizzate per stimolare la crescita delle cellule dei mammiferi [96]. L'azienda americana OMeat propone la plasmateresi regolare di bovini adulti per utilizzare alcune componenti del siero nel processo produttivo, in sostituzione del siero fetale bovino [97]. Per superare la variabilità compositiva e il rischio di contaminazione legati all'uso del siero, i ricercatori dell'Università di Nottingham, in collaborazione con le Università di Cambridge, Exeter, Tokyo e Meiji (Giappone), hanno sviluppato linee di cellule staminali da embrioni di suini, pecore e bovini che crescono senza siero o antibiotici [98]. Studi recenti si concentrano anche sul sequenziamento dell'RNA per analizzare il rimodellamento trascrittomico delle cellule satellite bovine durante la differenziazione miogenica indotta dalla carenza di siero [99] o sull'approccio "omico" per identificare segnali cellulari chiave (es. miocchine) che promuovono la crescita cellulare e controllano l'attività cellulare nella produzione di carne in assenza di siero [100]. I fattori di crescita, in particolare FGF-2 e TGF- $\beta$ , prodotti da proteine ricombinanti, rappresentano una voce di spesa significativa (150-200 USD al litro a concentrazioni standard) e possono incidere fino a oltre il 90% sui costi totali, poiché non mantengono a lungo la loro efficacia nei terreni di coltura e richiedono reintegrazioni continue. Sono stati esplorati diversi potenziali mimetici di questi fattori chiave di crescita che potrebbero sostituire o integrare FGF-2 e TGF- $\beta$  nel terreno di coltura [101]. L'eliminazione o la sostituzione di questi ingredienti di tipo farmaceutico con versioni alimentari porterebbe a enormi risparmi sui costi.

### **Innovazioni nei bioreattori e nella densità cellulare**

L'azienda Believer Meats ha implementato con successo un bioreattore a serbatoio agitato, dove le cellule crescono su *microcarrier* in un mezzo liquido senza aderire alle superfici, raggiungendo una densità cellulare di  $10^8$  cellule per ml. Questo approccio aumenta la superficie disponibile per unità di volume di terreno rispetto ai contenitori di coltura tissutale, consentendo di ottenere più carne con un minor numero di bioreattori e camere sterili, riducendo così i costi di produzione [102]. La start-up Orbillion Bio, in collaborazione con Sola Biotech, specializzata in bio-processi, sta sviluppando bioreattori con capacità fino a 20.000 litri, mirando a produzioni di oltre 1.800 tonnellate di carne all'anno. Per massimizzare la resa, Orbillion Bio coltiva cellule di manzo *wagyu* in sospensione nel terreno di coltura [103].

### **Microalghe come fonte di glucosio e nutrienti**

La maggior parte del glucosio nei terreni di coltura tradizionali per la carne coltivata deriva dalla coltivazione di cereali (mais e grano), con un impatto ambientale dovuto al consumo di acqua e all'uso di fertilizzanti e pesticidi. Ricerche recenti assegnano alle microalghe un ruolo fondamentale nel futuro della carne coltivata, rendendola meno dipendente dagli input di cereali e animali e offrendo numerosi benefici. Uno

studio condotto in Giappone ha dimostrato che diversi ceppi di microalghe (*C. littorale*, *C. vulgaris*) possono fornire alle colture cellulari glucosio, aminoacidi e altri nutrienti [104]. La coltivazione di microalghe, che non richiede fertilizzanti e pesticidi e ha un ridotto consumo di acqua, può avvenire anche su terreni non adatti all'agricoltura, comprese le aree urbane. Questo permette di alimentare un sistema circolare di coltura cellulare: i terreni di coltura residui, contenenti ammoniaca e lattati, possono nutrire le microalghe, che a loro volta sono capaci di rimuovere fino all'80% dell'ammoniaca e il 16% di fosforo. L'obiettivo immediato è un sistema chiuso di 30 metri quadrati in grado di produrre un chilogrammo di carne coltivata al giorno entro il 2030.

Questo sistema circolare, che funziona senza l'aggiunta di nutrienti derivati dai cereali e sieri animali, può contribuire alla futura produzione di carne coltivata riducendo l'impatto ambientale e il consumo di risorse/energia [105]. L'L-Lattato, un importante composto di scarto nelle cellule animali coltivate, è naturalmente utilizzato dalla maggior parte delle alghe. In alternativa al suo recupero, una pratica economicamente praticabile e vantaggiosa per l'ambiente se implementata nei futuri impianti di produzione, ricercatori giapponesi hanno pensato di rimuoverlo nei terreni di scarto e sviluppare un sistema di coltura cellulare animale sostenibile e hanno introdotto nel *Synechococcus*, un cianobatterio unicellulare, un gene da *Escherichia coli* che codifica per la L-lattato deidrogenasi [106].

Questo enzima converte il lattato in piruvato, un metabolita che può essere a sua volta convertito in glucosio dalle cellule. Numerosi laboratori e aziende in Asia, Europa e Stati Uniti perseguono concetti simili. Alcune aziende, come Mewery, stanno persino co-coltivando le cellule animali con le microalghe che simultaneamente consumano ammoniaca, forniscono ossigeno, esprimono fattori di crescita ricombinanti e diventano parte del prodotto finale. Questa strategia potrebbe fornire una soluzione meno dispendiosa in termini di energia e terra per la produzione di terreni di coltura su larga scala. Studi futuri dovranno confrontare i costi e l'impatto ambientale della produzione di carne coltivata integrata con le microalghe rispetto ai mezzi più convenzionali di produzione di input per i terreni.

#### ***Gli idrolizzati come componenti dei terreni di coltura***

Due nuovi studi di LCA sui terreni di coltura cellulare per la carne coltivata, pubblicati dal *Tufts University Center for Cellular Agriculture* (TUCCA) [107] e dall'Università di Helsinki [108], hanno confermato l'impatto ambientale dei terreni. Questi studi hanno dimostrato come l'uso di proteine vegetali, come gli isolati proteici di colza o gli idrolizzati agricoli di prodotti animali (es. da albumi d'uovo), possano sostituire le proteine ricombinanti ad alto impatto o il siero animale, riducendo significativamente l'impronta ambientale.

L'orientamento degli studi futuri prevede la modellazione

dei processi di produzione alimentare su larga scala di aminoacidi, proteine ricombinanti e altri fattori di produzione, nonché processi per la preparazione e la spedizione di formule in polvere finite. Nel primo studio americano, la riduzione dell'utilizzo di FBS nei terreni di coltura dal 10 al 2% (v/v) ha portato a una diminuzione di tutti gli impatti ambientali analizzati.

Ulteriori riduzioni sono state ottenute quando il FBS è stato completamente sostituito da terreni di base come DMEM/F12, Essential 8™, idrolizzati proteici e fattori di crescita ricombinanti. L'uso del suolo è stato il meno ridotto, essendo condizionato dall'estrazione dell'amido per produrre glucosio per il terreno DMEM/F12. Il terreno di coltura con idrolizzati proteici dall'albumi d'uovo ha ottenuto le maggiori riduzioni di impatto rispetto al mezzo contenente FBS. Uno studio australiano ha dimostrato che gli idrolizzati di erba Kikuyu, erba medica e pellet per l'allevamento di bovini, a determinate condizioni, promuovono la crescita delle cellule mioblastiche C2C12 in terreni contenenti lo 0,1% e lo 0% di siero [109].

Questi effetti in terreni privi di siero sono più pronunciati quando gli idrolizzati da pellet di mangime per bovini vengono combinati con promotori della crescita come insulina, transferrina e selenio. Uno studio simile della Texas A&M University ha evidenziato il potenziale dell'isolato proteico dell'erba medica ("alfalfaprotein") come componente promettente di terreni di coltura privi di siero per la proliferazione delle cellule satelliti bovine BSC [110]. Questi risultati confermano che materie prime esistenti e a basso costo possono fornire una fonte nutritiva adeguata per le cellule in coltura, sottolineando la necessità di ricerca continua su fonti proteiche alternative e nuove formulazioni di terreni di coltura per supportare una produzione sostenibile ed etica.

Il GFI, un'organizzazione no-profit che sostiene la ricerca, le politiche e gli investimenti per le proteine alternative, aveva annunciato che entro la fine del 2024 avrebbe finanziato diversi progetti sull'ottimizzazione degli idrolizzati. L'impulso per gli studi futuri dovrà focalizzarsi sulla modellazione dei processi di produzione alimentare degli attuali fornitori su larga scala di aminoacidi, proteine ricombinanti e altri fattori di produzione, nonché sui processi per la preparazione e la spedizione di formule in polvere finite come quelle perseguitate in nuove strutture. Nutreco, che ha già collaborato con diverse start-up del settore per fornire input di terreni a basso costo, ha annunciato l'apertura del primo stabilimento commerciale che produrrà in quantità industriali terreni di coltura cellulare in polvere di qualità alimentare.

#### ***Nuovi fattori di crescita e proteine ricombinanti***

I fattori di crescita, presenti anche nel FBS e le proteine ricombinanti, sono essenziali per la crescita delle cellule muscolari, ma il loro costo elevato rappresenta un'altra importante voce di spesa per la produzione di carne coltivata.



La ricerca è attualmente orientata sia alla produzione di proteine a partire da batteri, funghi o piante come sistemi di espressione, sia alla loro sostituzione con alternative vegetali, in particolare per le proteine utilizzate ad alte concentrazioni nei terreni come l'albumina e la transferrina. Ricercatori giapponesi hanno ottenuto la riduzione di FBS, evitando così l'uso del feto, incubando il terreno di coltura cellulare con cellule provenienti da organi di animali da allevamento, come fegati o placente, che secernono i fattori di crescita. In questo modo non sarà più necessario ricorrere al costoso processo di purificazione dei fattori di crescita derivati da altre fonti [111]

## Conclusioni

La carne coltivata è riconosciuta come una promettente fonte di proteine animali sostenibili, grazie al suo minore impatto ambientale rispetto alla carne convenzionale (ridotta impronta di carbonio, minor consumo di suolo e acqua) e al suo contributo potenziale alla sicurezza alimentare globale. Nonostante i benefici, la tecnologia è ancora in fase iniziale e presenta sfide significative, tra cui i costi elevati per la produzione su scala industriale, tecnologia immatura, forte dipendenza da componenti animali per i terreni di coltura, mancanza di dati sulle proprietà sensoriali, sicurezza e contenuto nutrizionale coperti da proprietà intellettuale delle aziende, che limitano la ricerca e la standardizzazione ma sono essenziali per la fiducia dei consumatori.

La storia tecnologica insegna che i costi tendono a diminuire con il miglioramento delle tecniche, favorendo la produzione su larga scala.

Le difficoltà attuali avvertite dal settore, tra cui risorse sprecate e promesse non mantenute, sono prevedibili battute d'arresto nel ciclo di hype di Gartner per l'innovazione. Affinché l'agricoltura cellulare raggiunga il "plateau della produttività", deve superare non solo ostacoli biotecnologici e ingegneristici, ma anche sociali e politici.

Per superare queste sfide, sono necessari sforzi congiunti nei settori della ricerca a sviluppo, abbandonando l'approccio frammentato e a silos e promuovendo la collaborazione tra industria, ricerca, università e autorità regolatorie, anche attraverso partnership pubblico-private e la condivisione dei dati scientifici.

Sono essenziali modelli accurati, che richiedono dati migliori su cellule, composizione della biomassa, cinetica, consumo dei nutrienti ed efficienza energetica. Il settore inoltre necessita di una regolamentazione armonizzata con linee guida chiare e standard di sicurezza uniformi a livello internazionale.

La penetrazione nel mercato dipenderà da fattori etici, dall'accettazione sociale e dalle politiche governative di supporto per regimi fiscali e di sussidio. I consumatori accetteranno la carne coltivata solo se il sapore e la consistenza saranno simili a quelli tradizionali, garantendo sicurezza



e sostenibilità. La carne coltivata non mira a sostituire completamente quella convenzionale, ma rappresenta un'opportunità preziosa per una transizione proteica sostenibile. La diversità di opzioni alimentari, incluse quelle vegane, vegetariane e a base di carne, è un vantaggio per l'ambiente, la biodiversità e la scelta del consumatore.

D'altronde le conseguenze del cambiamento climatico impongono di reinventare le economie, ripensare i consumi e ridefinire il rapporto con la natura. Il Programma delle Nazioni Unite per l'Ambiente ha evidenziato come l'allevamento intensivo sia un potenziale fattore scatenante per future pandemie e un driver della resistenza agli antibiotici. La carne coltivata riduce entrambi i rischi, diminuendo la necessità di antibiotici e la possibilità di spillover di agenti infettivi.

È tempo di ripensare la narrativa del cibo, superando la dicotomia tra natura e innovazione scientifica e tecnologica. Questo approccio favorirà l'accettazione da parte del pubblico di soluzioni solo apparentemente innaturali come la carne coltivata, che riflettono l'evoluzione dei moderni processi di produzione con un occhio attento a preservare l'impatto ambientale.

*La bibliografia è disponibile presso la Redazione.*