

张智霞, 马鑫淼, 许慧, 等. 人造肉技术的研究现状及展望 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(17): 416–425. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090185

ZHANG Zhixia, MA Xinmiao, XU Hui, et al. Research Status and Prospects of Artificial Meat Technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(17): 416–425. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090185

· 专题综述 ·

人造肉技术的研究现状及展望

张智霞¹, 马鑫淼¹, 许慧¹, 车丽娜¹, 李玉¹, 王稳航², 王楠^{1,*}

(1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;

2. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 全球人口持续增长使得人们对肉制品的需求持续上升, 然而, 传统的肉类生产方式既无法满足人们的需求, 也带来了环境压力和动物福利等一系列问题, 而人造肉技术的发展有望解决这些问题。目前人造肉可以分为植物基肉、菌类蛋白肉类似物和细胞培养肉三大类。本文主要介绍了三种人造肉的生产过程, 综述了它们各自的优势及市场前景, 并分析人造肉目前面临的主要困难与技术挑战, 对其相应的发展建议及解决策略进行探讨, 以期为人造肉的研究及其产业化提供参考。

关键词: 人造肉, 植物蛋白肉, 菌类蛋白肉, 细胞培养肉

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)17-0416-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090185



本文网刊:

Research Status and Prospects of Artificial Meat Technology

ZHANG Zhixia¹, MA Xinmiao¹, XU Hui¹, CHE Lina¹, LI Yu¹, WANG Wenhong², WANG Nan^{1,*}

(1. College of Biological Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The continuous growth of the global population has led to a continuous rise in the demand for meat products. However, traditional meat production methods are unable to meet the huge demand of the people, and also bring about a series of problems such as environmental pressure, animal welfare, and so on. Artificial meat technology is expected to solve these problems. At present, artificial meat can be divided into three categories: Plant protein meat, mushroom protein meat, and cell culture meat. This study mainly summarizes the production process, advantages, and market prospects of three types of artificial meat, analyzes the difficulties and technical challenges, and discusses the corresponding development proposals and solution strategies, with a view to provide references for the research of artificial meat and its industrialization.

Key words: artificial meat; plant-based protein meat; mycoprotein meat; cell cultured meat

肉类是人类饮食中不可或缺的一部分, 是热量、高生物价值蛋白和各种微量营养素(如铁、锌、磷、烟酸、维生素 B₆ 和维生素 B₁₂)的重要来源。据估计, 到 2050 年, 全球人口将至少达到 100 亿^[1]。由于人口增长、城市化和工业化的发展以及生活水平和家庭收入的提高, 中国和许多其他发展中国家对肉类消费的需求急剧增加, 预计 2050 年全球肉类产量将相较于 2018 年增加到 169%^[2]。以畜牧养殖业和传统

肉类生产方法为基础的传统畜牧业将面临巨大挑战, 同时伴随着资源浪费、环境污染以及食品安全和动物福利等问题。而人造肉则为这些问题提供了可能的解决方案, 有助于缓解传统肉类生产带来的压力。

人造肉(Artificial meat), 即不需要饲养动物, 直接由人工的方式制造出来的肉。目前人造肉主要分为三类: 植物基肉、菌类蛋白肉类似物和细胞培养肉。植物基肉是以植物蛋白为原料, 通过添加一些辅

收稿日期: 2023-09-19

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC2101403)。

作者简介: 张智霞(2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 细胞培养肉, E-mail: zzx031527@163.com。

* 通信作者: 王楠(1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品研究与开发, E-mail: wn929@tust.edu.cn。

料和添加剂制造而成^[3]。2021 年 6 月 25 日,由中国食品科学技术学会发布的《植物基肉制品》团体标准开始实施,团体标准对植物基肉的定义、理化指标、标签标识、运输和贮存等进行了规范。植物基肉能有助于减少摄入饱和脂肪酸和胆固醇、避免因脂肪摄入过多而导致疾病,但其口感以及风味与动物肉仍然有差距,缺乏弹性和咀嚼性,并且在其制作的过程中可能会丢失部分营养物质。因此,可以通过异味修饰技术、生物合成血红蛋白等技术改善植物蛋白肉的风味与色泽,通过提升纤维化技术、合理复配等手段实现质构拟真提升口感,通过针对性添加及进行抗营养因子处理等方式丰富营养。

菌类蛋白肉类类似物主要是通过养殖或发酵食用菌来生产肉制品^[4]。第一个商业化的肉类类似物——汉堡肉饼,是由可食用的丝状真菌禾谷镰刀菌制成的,并于 1994 年成功通过了英国食品标准委员会的安全评估^[5]。菌类蛋白肉类类似物富有鲜味、营养丰富,不仅可以丰富口味,而且可以更好地满足人们对某些矿物质的日常需求,然而菌类蛋白深加工基础薄弱、消费者接受度较低且工艺成本较高等问题使其没有得到进一步推广。可以通过开发菌类蛋白资源库,来缓解菌类蛋白质供应缺口的问题,为消费者提供健康、低脂、风味多元化的产品^[6]。

细胞培养肉通过分离动物原生组织中的干细胞,再经过一系列体外培养分化获得^[7],由于其来源于动物组织细胞,其外形、口感、质地和营养比植物基肉更加接近真实肉类^[8],因此有望成为更合适的动物蛋白替代品。细胞培养肉的出现解决了传统肉类存在的部分问题并有效缓解了环境压力,但由于其技术开发成本高,导致大规模生产细胞培养肉存在诸多挑战。同时种子细胞来源有限以及规模化生产的核心装备缺乏都是未来需要攻克的主要难点。诱导多功能干细胞技术,即将成熟体细胞进行诱导而产生具有自我更新及多分化潜能的细胞的方法,或者通过基因编辑方法使细胞永生化,这些技术可能有望解决动物体内干细胞有限这一难题。低成本无血清培养基、反应器放大工艺、3D 打印、片层堆叠等技术研发有利于降低生产成本,推动细胞培养肉技术发展及产业化进程。

食品与生物科技的发展促使食品行业向着新型

智能化和精准营养化的方向发展,人造肉作为新型未来食品的代表,其制造过程结合多种学科技术。目前,国内外食品科学领域掀起了对人造肉研究的热潮。针对这一现状,本文主要总结了目前几种常见人造肉的生产过程、所面临的技术挑战以及市场前景,并提出相应的发展建议,以期为人造肉的研究及其产业化提供参考。

1 植物基肉

1.1 植物基肉的发展历程

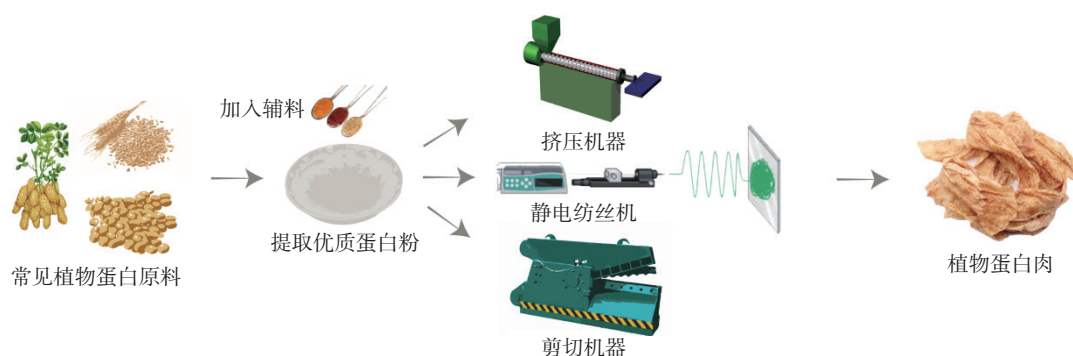
利用植物来替代肉类早在几个世纪前就出现了,豆腐作为亚洲饮食当中具有代表性的食物,早在公元 965 年就被制作出来,并被称为“小羊肉”^[9]。在 20 世纪 60 年代,大豆蛋白作为一种主要的传统肉类替代品以豆腐和豆豉的形式进入美国市场,大豆蛋白质具有与动物蛋白质相当的高营养价值,并且形成肉类替代品的优良基础,通过组织化植物蛋白的方法来提取大豆蛋白,到二十世纪晚期,开始用相似的方法提取小麦、豆类和蘑菇的蛋白用作肉类替代品^[10]。起初,这些植物源性的人造肉由于与西方社会的饮食有很大的不同,因此在西方社会中并没有得到广泛的普及,随着食品生物技术的进步,植物基肉的口感和味道越来越接近真实肉类,已经成为非常受全世界欢迎的肉类替代品。植物基肉产品发展历程如表 1 所示。

1.2 植物基肉的生产过程和面临的技术挑战

1.2.1 生产过程 组织化植物基蛋白用以生产植物基肉的技术包括高水分挤压技术、纺丝和剪切细胞技术^[13]。在挤压技术中,通过加热料筒和剪切螺杆使蛋白质经受机械和热应力使得蛋白质结构改变,并且所得碱性蛋白质溶液通过喷头被挤出到酸性凝固浴中,这导致沉淀成纤维形式,纤维被展开、交联和排列,为了固化产物,应用热处理、干燥或凝固方法,通过进一步加工,这些纤维排列成最终植物基肉产品^[14]。在纺丝技术中,通过将粘度较高的蛋白质溶液变成凝固液,从而产生连续、定向的纤维,纤维经过多层堆叠之后,便可以产生具有一定形状和厚度的产品。在剪切过程中,高温锥形剪切单元用于诱导高温和剪切诱导的机械力将植物蛋白混合物转化为纤维蛋白。通过改变剪切工艺条件可获得具有不同特性的多种产品,植物基肉的生产流程如图 1 所示。

表 1 植物基肉产品发展历程
Table 1 Development history of plant-based meat products

植物基肉	制备工艺	优点	缺点
豆制品: 豆腐和大豆制成的豆豉 ^[11]	磨浆、煮浆、凝固而成	制作工艺简单、外形更接近肉类	色泽、口味与真肉差距较大
小麦制品	单螺杆挤压设备制作	制作工艺简单、口感筋道	外形、口味欠佳
植物蛋白类制品	螺杆挤压机制造的拉丝蛋白,再经过浸泡、脱水、卤煮、调味等工艺制作而成	初具肉的形态、风味、口感,具有类似肉的丝状纤维结构	豆腥味重
口感、质地、色泽更接近真实肉类的改良植物蛋白类制品 ^[12]	利用高水分挤压(水分>50%)设备制造肉类纤维质地类似物	无豆腥味; 肉质连接更加紧密; 色泽鲜亮	尚需进一步改进, 优化相关改性技术、纤维化技术、异味修饰技术、生物合成技术等

图1 植物基肉的生产流程^[12-13,15]Fig.1 Production process of plant-based meat products^[12-13,15]

1.2.2 技术挑战 植物基肉目前在色泽、口感、质地、风味等方面还存在较大的问题。首先影响消费者购买欲的一个重要指标便是颜色,植物基肉在蒸煮过程中应与动物肉的色泽性质保持相似,但目前应用于植物基肉的食品色素颜色较深、不自然、易氧化且缺乏肉色的光泽感^[16]。影响其色泽的主要因素是肌红蛋白,故模拟肉色的研究主要集中在开发食品级菌株来合成植物血红素和血红蛋白^[17],着色剂甜菜红、番茄红、高粱红、红曲红的添加同样可以使其具有真肉的颜色。目前发现了可以替代肌红蛋白的血红蛋白,含有血红素铁的大豆血红蛋白结构与肌红蛋白相似,且有着与肌红蛋白相近的食品化学特性可以大大提升产品色泽感。

除色泽外,口感和质地亦为植物基肉的关键考量因素,添加适量的粘合剂,如海藻酸钠、卡拉胶、甲基纤维素等,能够增加水或脂肪与蛋白质之间的连接^[8],Gu等^[18]通过添加10%玉米淀粉所制作的植物基肉具有更好的粘弹性、紧实度和水润度;加入油脂,如植物油、棕榈油、大豆油、可可脂等,将使植物基肉的口感更加松软,并提供一部分能量;Jimenez-Colmenero等^[19]用魔芋制作凝胶,因具有良好的弹性、质地成为合适的脂肪替代物。岳程程等^[20]发现水分含量显著影响植物基肉的硬度、咀嚼度和弹性。因此可通过调节水分含量控制植物基肉口感;Carmo等^[21]发现在高水分挤压过程中,水分含量对蚕豆蛋白肉类似物的影响通常高于温度和进料速率的影响,因此需继续研究高水分挤压技术,增加植物基肉口感^[22];组织化植物蛋白使其产生纤维结构紧密且富有弹性的即食蛋白;开发食品黏结剂和亲水胶体增强凝胶性和提高持水性,从而减少烹饪中汁液的损失。结合新的生物技术、酶技术,改善植物基肉口感和质量,提高产量,为规模化生产提供技术支持。在植物基肉的质量评估中,风味同样占据着举足轻重的地位,此时常用的方法便是添加调味料进而提升肉的香味。

其次植物基肉在加工过程中会有部分营养的损失,故有必要改进生产配方,多种蛋白成分的协同使用提高其营养价值。

1.3 植物基肉的优势和市场前景

植物蛋白目前是人造肉的主要原料来源之一,如小麦的谷蛋白,棉籽、花生、芝麻和大豆的球蛋白。用于制备植物基肉的主要成分是大豆蛋白和谷物蛋白。不过,目前大部分生产都是以具有高质量的营养和功能益处的大豆为原料,其被广泛制作到食物中用以替代肉类。肉类产品可从越来越多的蛋白质来源获得,作为蛋白质来源之一的大豆价格低廉,故对于那些在饮食中寻求非动物来源蛋白质的人来说,大豆蛋白是非常有吸引力的替代品。大豆蛋白具有与肉类相当的生物学价值,也是钙和亚油酸的良好来源, α -亚油酸作为一种必需脂肪酸存在于大豆中,经常食用大豆食品也对健康有益。大豆和其它含油种子提取物以及通过基于各种底物和微生物的发酵生产的蛋白质将主要用于植物性肉的生产^[23]。

植物基肉目前在市场上比较常见,国内的生产制作技术也日益成熟,越来越多的植物作为植物基肉的原辅料被开发出来。与肉类蛋白不同,植物蛋白除了提供良好的蛋白质来源外,还有望减少饱和脂肪和胆固醇的摄入。植物基肉所含的脂肪含量较低,食用植物基肉可以有效避免因脂肪摄入过多而带来的糖尿病、心血管疾病等,有利于身体健康;它还提供了许多其他健康的营养素,如植物化学物质和纤维;植物蛋白质中还含有蛋白酶抑制剂、植物甾醇、皂甙和异黄酮等生理活性成分,这些成分具有降脂、降血压的作用^[24]。相比于细胞培养肉,植物基肉适用的消费人群更加广泛,不仅包括素食主义者和一些宗教主义者,还包括希望通过植物性食品来代替肉食品的消费者。

在植物基肉生产市场中,Impossible Food公司和Beyond Meat公司占主导地位。Beyond Meat使用豌豆、糙米、蚕豆和绿豆的混合物,而Impossible Food公司使用大豆为蛋白质来源,Beyond Meat公司利用甜菜汁和苹果提取物来模仿肉的红色,而Impossible Food公司使用大豆血红蛋白,模拟肉类中的血红素,这种大豆血红蛋白不仅具有类似血液的外观,而且还具有类似肉的味道。动物来源的过量血红素使用与二型糖尿病、心脏病和中风的风险增加有关,然而,大豆血红蛋白的安全性问题目前尚不清

楚,正在探索中^[25]。

食用植物能对人类健康带来的益处并不能直接外推到植物基肉上,植物基肉的所含常量/微量营养素组成与传统肉类相似,但其加工过程会降低营养含量。大多数植物基肉产品饱和脂肪含量低,但钠含量高,此外,这些植物基肉产品对肠道微生物将会产生怎样的影响还需要进一步研究。植物基肉的生产所涉及的供应链、物流和农产品可能会产生过多的碳足迹带来的环境问题也需要额外关注。因此,需要进行更专业、更全面的研究,以阐明其对健康的长期后果以及对环境的影响。

2 菌类蛋白肉类似物

2.1 菌类蛋白肉类似物的特点

菌类蛋白肉类似物,又叫菌类蛋白,由细菌、酵母、真菌和微藻的纯培养物或混合培养物产生的具有微生物来源的蛋白质制作而成^[26]。目前,菌类蛋白肉类似物最常见的来源是丝状真菌,产生的蛋白质被称为真菌蛋白。已被商品化生产的菌类蛋白食品“Quorn™”来自于镰刀菌(*Fusarium*)^[27]。Finnigan 等^[28]研究证明 100 g 真菌蛋白干物质中包括 13 g 脂肪、45 g 蛋白质、10 g 碳水化合物、25 g 纤维和几种维生素和矿物质,所含蛋白质的生物学价值与牛奶蛋白相似。此外,使用植物源生产的蛋白肉通常具有来自植物本身的异味,菌类蛋白富含高硫含量的氨基酸和谷氨酸而更有鲜味,能够很好地满足消费者的口味。以蘑菇为例,蘑菇的天然蛋白质是纤维状的,使得其蛋白肉制品具有可咀嚼性,菌丝的细胞壁富含膳食纤维,细胞膜中富含多不饱和脂肪酸,细胞质富含高质量的蛋白质,可降低血液中有毒的胆固醇^[6,29],有助于满足人类对蛋白质、矿物质和维生素的日常需要。

2.2 菌类蛋白肉类似物的生产过程和技术挑战

2.2.1 生产过程 菌类蛋白肉类似物的制备主要源于底物与微生物的发酵技术。底物主要由发酵培养基提供,该培养基包含食品级碳水化合物以及一系列食品级成分,如钾,镁,磷和铵盐,微量元素和维生素。一般来说,菌类蛋白肉类似物可以在任何发酵系统中产生,例如固态、半固态和深层发酵以及表面培养,其中液体深层发酵可获得最高的产量^[30]。在发酵

过程结束时,通过加热处理发酵液以降低 RNA 含量,随后使用离心或过滤的方法产生类似鸡胸质地或面包团的糊状物^[31],经过搅拌、成型、冷却得到菌粉,从而获得蛋白质含量高的菌体蛋白肉类似物,可用于制作汉堡、香肠等,其生产过程如图 2 所示。

2.2.2 技术挑战 目前通过生物发酵技术所得到的菌类蛋白肉类似物的蛋白含量通常很高,但菌粉的成分与传统肉类相比,某些微量元素和维生素含量较低,可能无法满足人体日常生理需求^[32],因此可以通过针对性添加元素来平衡菌类蛋白肉营养的组成。菌类蛋白肉类似物中含有的核酸在食用过多的情况下可能会引发痛风等代谢类疾病^[33]。目前常用的核酸清除方法主要包括超声波破碎法、浓盐法、浓盐与超声破碎结合法、菌体自溶法,以自溶法的清除效果最好,但其仍含有 8% 的 RNA 和 2% 的 DNA。这一含量距离人体食用等级还有一定差距,故国内将菌体蛋白肉类似物主要用于动物饲料领域^[34]。菌粉在素肉制品中通常作为辅料添加,而要实现菌体蛋白为主料进行生产,需要研发适于高产蛋白质的食用菌菌种,建立食用真菌蛋白的规模化生产技术和组织加工工艺,发掘利用其特征性营养价值和加工性能。

2.3 菌类蛋白肉类似物的优势和市场前景

人类食用菌类已经有很长的历史,菌类蛋白可以模仿肉类的味道和稠度,这为未来菌类蛋白肉类似物代替传统肉类提供可能,已在多个国家实现商品化的“Quorn”是菌类蛋白肉类似物被社会接受的最好例子。目前的研究结果表明,真菌蛋白的生物学价值与肉类相当,维生素 B 族成分在真菌蛋白中的含量高于肉类。在环境友好方面,菌类蛋白生产比传统肉类生产消耗的水和土地占用低约 20 倍和 23 倍。此外,食用真菌蛋白可以减少食源性疾病发生概率和降低血液胆固醇水平^[35-36]。

英国建立了第一家枯萎镰刀菌发酵获取高纤维、低饱和脂肪的优质蛋白的车间。近年来,菌种制作技术和标准化菇房的发展推进了菌类蛋白肉类似物生产的工业化和集中化^[37]。Souza 等^[38]研究结果显示与使用合成培养基相比,使用豌豆加工副产物可以产生更多的蛋白质,且更加环保。Berger 等^[7]认

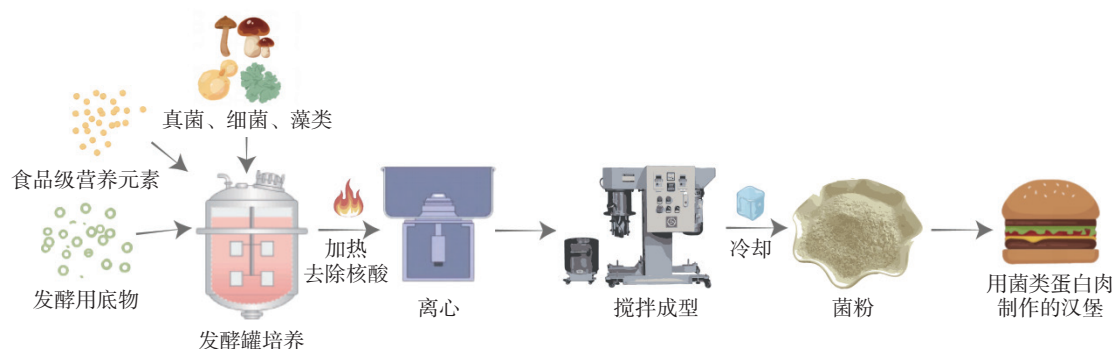


图 2 菌类蛋白肉类似物的生产流程^[13,30-31]

Fig.2 Production process of mycelium protein meat analogues^[13,30-31]

为菌类蛋白肉类似物生产过程相对简单,可以根据需求随时随地以任何规模进行生产。Kim 等^[39]使用甘蔗提取物、硝酸钠等作为液体培养基,将双孢菇菌丝体在其中发酵,开发了一套经济的菌类蛋白肉类似物生产流程。

3 细胞培养肉

3.1 细胞培养肉的研究现状

10 年前,第一块人造牛肉汉堡的问世掀起了细胞培养肉研究的热潮。细胞培养肉(Cultivated meat),也称为体外肉(*In vitro* meat)、细胞肉(Cell-based meat)或清洁肉(Clean meat),在一定程度上解决了传统肉类带来的动物福利问题,避免了动物经历屠宰过程中的痛苦。与此同时,饲养动物过程中带来的经济与环境压力的问题也迎刃而解。Sinke 等^[40]根据对商业规模生产细胞培养肉的生命周期预测(Life Cycle Assessment, LCA),在 2030 年,与传统的鸡肉、猪肉和牛肉生产相比,工业化生产细胞培养肉预计可以分别减少 64%、67% 和 55%~90% 的土地使用;相比于猪肉和牛肉,生产细胞培养肉产生的碳足迹预计可分别减少 43% 和 67%~92%。

传统肉类虽然具有较高的营养价值,但其携带的病原菌及化学污染物也给人类健康带来了一些风险。流行病学调查显示摄入红肉或加工肉类会增加癌症风险,尤其是增加结直肠癌风险^[41]。Micha 等^[42]研究表明食用加工肉类与冠心病发病率较高有关。Du 等^[43]发现食用红肉与糖尿病的高发病率呈正相关。大多数环境污染物(多氯二苯并对二恶英、多氯联苯、多溴二苯醚、多氯化萘等)在脂肪中高度可溶,这些化学污染物会增加癌症风险^[44]。因此,减少传统肉类中脂肪的摄入,将有利于降低由脂肪引起的肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化等疾病发生率,还可以降低由化学污染物带来的患癌风险^[45]。而细胞培养肉全过程采用营养成分明确、不含污染源的培养基进行无菌培养,各个环节清晰可控,可以避免病原体及环境污染物等对人类健康带来的不利影响。

3.2 细胞培养肉的生产过程

细胞培养肉是细胞农业的一个分支。细胞农业(Cellular agriculture)的广义定义是利用细胞培养技

术而不是从养殖动物来生产肉、奶、蛋、海鲜和其他产品及配料^[46],细胞培养肉生产的一般过程是:首先从活的或者处死的动物组织中获取合适的种子细胞,对种子细胞进行小规模扩增培养保持其干性生长,接着投入到生物反应器中进行扩大的规模化生产,然后根据需求将干细胞进行定向诱导谱系分化,最后将细胞与合适的支架材料结合进行三维立体培养^[46-48],最终获得成熟的肉制品(图 3)。细胞培养肉工业化生产的目标是制造具有与传统肉类的质地、感官特性相似并且相对便宜的肉替代品。

3.2.1 种子细胞的获取 可用于细胞培养肉生产的干细胞主要包括胚胎干细胞(Embryonic stem cells, ESCs)、诱导多能干细胞(Induced pluripotent stem cells, iPSCs),以及成体干细胞,如肌肉干细胞(Muscle stem cells, MuSCs)和间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)^[52],如表 2 所示。目前使用较广泛的是 MuSCs 和 MSCs。在体内, MuSCs 在肌肉中数量恒定且具有自我更新能力,这些细胞能分化成肌细胞用于肌肉再生和组织修复^[53]。在体外, MuSCs 在培养基或者生物反应器中生长,它们在特定条件下被诱导分化成肌细胞,成肌细胞进一步融合形成肌管,肌管在生长环境刺激下分化成肌纤维^[54],肌纤维是组成细胞培养肉的基础。MSCs 已被证明可以分化为脂肪细胞和肌细胞^[55-56],进而可以用于生产脂肪和肌肉。Zagury 等^[57]通过在藻酸盐水凝胶内装载牛 MSCs 构建了富含脂肪的三维可食用组织块。Machour 等^[58]将 MSCs 接种在卡拉微凝胶上,结果显示 MSCs 表现出更好的活力和增殖能力,该技术有望用于细胞培养肉的生产。

3.2.2 种子细胞的培养过程 种子细胞需要营养因子来促进其增殖、分化和成熟,培养基为细胞提供足够的营养供应。目前,细胞培养常用的培养基通常需要添加动物源血清,不同批次的血清组分差异较大,并且有引入致病因子的风险。此外,胎牛血清的采集会带来伦理问题,并且用含血清培养基培养获得的细胞培养肉不适合素食主义者或特定宗教的消费者。因此含血清培养基不适于工业化规模生产,而开发无动物源性血清的培养基是生产细胞培养肉中最亟待

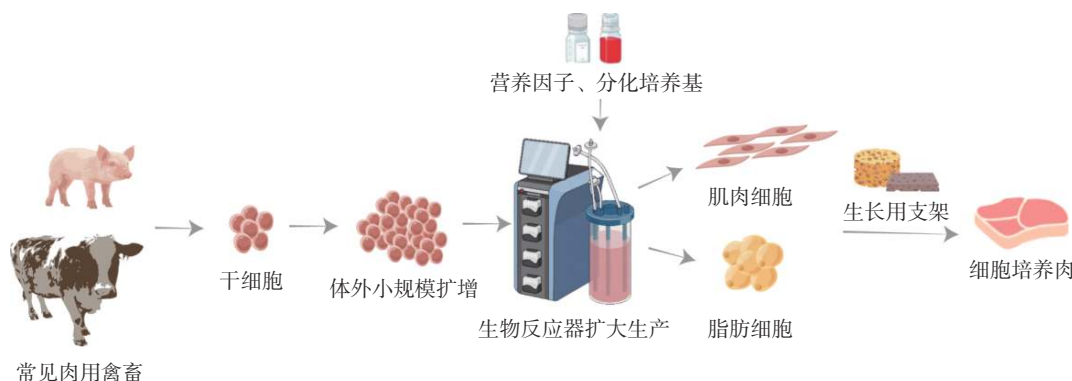


图 3 细胞培养肉的生产流程^[11,46-51]

Fig.3 Production process of cell cultured meat^[11,46-51]

表 2 可应用于细胞培养肉种子细胞

Table 2 Seed cells that can be applied to cell cultured meat

细胞类型	位置	优点	缺点
胚胎干细胞	囊胚内细胞团	高度增殖	培养过程中发生基因突变导致增殖能力下降
诱导多能干细胞 ^[59]	通过诱导与多能性相关的基因对体细胞进行细胞编程而产生	分化成肉类中存在的所有细胞类型	通过基因编辑获得,但是在该过程部分体细胞的基因仍然存在,难以达到去分化状态
肌卫星细胞 ^[52-54]	肌纤维基底膜下	负责损伤后肌肉再生	增殖能力有限,扩增过程中细胞容易衰老
成纤维脂肪祖细胞 ^[50]	骨骼肌间隙中	肌源性发育和组织中起重要支持作用	增殖和维持能力在体外受限

解决的问题。市售血清替代品和无血清培养基为体外培养哺乳动物细胞提供了更多选择,降低了操作成本和工艺批次间的差异,同时减少了潜在的传染源^[60]。目前无血清培养基已被用于火鸡、绵羊和猪的体外肌卫星细胞培养。常见血清替代物及添加物见表 3。市售的血清替代物 Ultroser G 主要用于替代胎牛血清支持体外贴壁细胞的生长,其包含真核细胞生长所必需的生长因子、结合蛋白、粘附素、维生素、激素和矿物质微量元素等。有研究指出用 Ultroser G 培养的哺乳动物骨骼肌细胞在相同的时间内成熟度更高,存活力更持久,肌管更长,核更集中^[61]。来自蘑菇提取物的富含氨基酸的培养基对于鱼外植体的生长作用与血清相当^[62],但非动物源性蛋白中潜在的过敏原是一个值得关注的风险因素。

确定激素和生长因子的最佳组合是替代血清的另一种方式。Lei 等^[63]筛选获得了一种能够促进猪肌肉干细胞快速增殖的四种细胞因子组合(生长因子-1,血小板衍生生长因子 BB,碱性成纤维细胞生长因子,表皮生长因子)。肌肉干细胞在含有该因子组合的培养基中培养 28 d 后数目可扩增近 6.31×10^7 倍^[64],细胞数量增加了一倍并且其成肌分化的潜能也有效提高。四种细胞因子组合使用将细胞培养中对胎牛血清需求降低了一半,极大降低了生产成本。外源性调节因子对不同细胞的调节作用往往是特异性的,不同种类的肌肉干细胞对相同的调节因子有不同的反应。在细胞培养过程中也需要根据细胞培养状态改变外源性调节因子的组合,例如增殖期可能需要生长因子和激素的某种组合,而分化和成熟期可能需要另外不同的组合^[50]。

3.2.3 细胞生长用支架系统 在培养基中生长的细胞如果没有合适的支架,想要获得类似传统肉类结构

的组织是非常困难的。在细胞培养肉生产过程中,支架上需要附着可被细胞高效利用并有助于细胞生长的营养物质^[67]。理想的支架应为非动物源,具有适当大小的表面积供细胞生长和附着,具有组织样硬度的柔韧性以供肌管生长,及良好的培养基扩散能力和易于与培养肉分离的能力,适当的支架系统可以促进细胞增殖、分化^[68-69]。常见支架系统如表 4 所示。为了使细胞更好地生长和分化,需要在支架中添加各种组织特异性生长因子、粘附蛋白等结合的脱细胞基质材料,以制备类似于真实肉组织的凝胶状基底材料^[70]。研究证实具有条纹纹理的支架由于其与肌肉结构的相似性而具有促进肌管形成的作用^[71]。可食用支架的开发将加速细胞培养肉的制作过程,并避免了从支架上分离培养的组织这一过程中的潜在污染等风险。植物蛋白支架具有低成本、额外的营养价值和细胞相容性好等应用优势。例如,利用大豆蛋白开发的植物基支架可用于生产细胞培养肉,大豆组织蛋白(Textured soy protein)具有多孔结构,有助于牛肌管的增殖^[69]。这些支架需要预先进行化学作用或用细胞外基质蛋白进行预处理,以支持细胞粘附并增加类似于动物支架的功能性^[72]。

3.2.4 三维培养及组织塑形 从单个细胞到整块的细胞培养肉,还需要用到 3D 打印、组织工程等手段,主要是将细胞进行三维立体培养的过程,如表 5 所示。3D 生物打印塑形是利用 3D 生物打印机的挤压式打印模式,将含细胞和非细胞成分的生物墨水(Bio-ink)构建为复杂组织,并经过长时间培养形成培养肉的塑形方式^[57]。3D 打印被认为是未来制备细胞培养肉最普遍的技术,利用该技术可以制备与传统肉类显著相似的器官和组织,具有巨大的市场潜力。从 2010 年开始,随着技术的成熟,3D 打印机的

表 3 常见血清添加物

Table 3 Common serum additives

分类	功能
生长因子: FGF-2、TGF- β 、HGF、IGF、TNF- α ^[50]	刺激细胞增殖、分化,调节细胞各类活动与功能
植物源蛋白水解物: 大豆蛋白水解物、小麦蛋白水解物 ^[65]	可提高细胞密度、活率及重组蛋白表达量
维生素 C	增强猪肌肉干细胞的离体增殖能力
P38 抑制剂、YAP 激活剂	抑制细胞分化,促进细胞扩增
黄酮类: 槲皮素、淫羊藿苷和 3,2'-二羟基黄酮、皂苷类: 人参皂苷、三七皂苷 ^[66]	抑制细胞分化,促进细胞扩增
碳水化合物、氨基酸、脂肪	碳基分子可作为营养物质
胰岛素、IGFs、维生素 C	调节脂肪生成和成纤维增殖 促进蛋白质、糖原、脂肪酸及 RNA 的合成
亮氨酸及其代谢物	调节蛋白质合成和积累,增强肌肉蛋白质合成促进肌肉组织肥大

表 4 相关支架系统
Table 4 Associated bracket systems

支架材料	优点	缺点
多孔明胶微载体 ^[5]	易于生产扩大贴壁细胞规模	需额外的降解步骤成本高
聚乳酸、聚乙醇酸 ^[51]	提高细胞组织的结构稳定性与表面结合率加速细胞生长率	生物活性低
纤维蛋白	生物相容性好可生物降解具有内在生物活性	昂贵
自组装肽	用于组成纳米纤维基质有助于细胞大规模增殖	生产策略成本昂贵
植物蛋白 ^[65]	价格低廉生物相容性好可食用	弱力学性能快速生物降解
透明质酸 ^[72]	促进脂肪生成、血管生成和组织组织化	昂贵
多糖	生物相容性好无毒可持续性好	弱力学性能

表 5 3D 培养及组织塑形技术
Table 5 3D cultivation and tissue shaping technology

技术分类	方法	材料	优点
三维培养 ^[65]	细胞接种于固体支架或模具中并进行三维培养,使细胞增殖分化进而形成肌纤维、脂肪等组织,再经加工获得块状培养肉	水凝胶材料、植物蛋白支架、组织化植物蛋白	提高细胞培养产品稳定性;可支持细胞生长和细胞外基质沉积,促进肌肉组织生成
3D生物打印 ^[73-74]	利用3D打印机的挤压式打印模式,将含细胞和非细胞成分的生物墨水构建为复杂组织,并经过时间培养形成培养肉	可食用的多糖或蛋白质组成的聚合物,如胶原蛋白、明胶、丝素蛋白角蛋白等	可以调节样品形状和孔隙大小,精确地定位并分配细胞和非细胞成分;可以满足多种生物墨水材料同时打印
静电纺丝 ^[69,75]	利用静电作用力将明胶等高聚物溶液以一定流速挤出注射器针头,形成微纳米级超细纤维,随后将细胞接种于超细纤维间隙并诱导分化为组织	明胶、甲基丙烯酸海藻酸盐(AA-MA)、聚己内酯等高聚物	支持细胞的黏附并为其提供氧气和营养素的输送间隙;该纤维细丝排列一致,有助于促进肌肉纤维的形成
片层堆叠	将细胞接种于微载体上,经增殖、诱导分化形成完整细胞片层,并通过多片层堆叠得到培养肉产品	微载体需由可食用材料制成,如明胶、纤维素、交联葡聚糖等	节省细胞消化步骤,无需去除用于细胞扩增的微载体

成本明显降低,并且预计未来将保持相同的趋势^[73]。在细胞培养肉的生产中,3D 打印仍处于概念化和实验室规模,需要在细胞复杂的 3D 组织分布、细胞高度沉积、神经支配和循环系统等环节进行重大技术突破^[74]。组织工程涉及到将细胞培养在仿生支架的表面,通过这种方式促使细胞与各种生物材料结合^[54]。在支架中结合细胞和生物材料的过程可进一步分为两种类型,即自上而下(由于对细胞分布的控制较少而导致细胞外基质缺乏,从而导致组织功能不良)和自下而上(通过纳米和微米技术以适当的精度逐块形成组织)^[74-75],细胞可以响应动态细胞外基质的纳米级变化,证据表明无需外源可溶性生化因子的参与,仅仿生纳米图案就可以指导干细胞的生长发育^[69]。

3.2.5 技术挑战 种子细胞体外培养过程中如何维持干性与高效定向分化的能力是细胞培养肉规模化生产过程中的重要技术问题。理想的细胞培养肉的细胞应具有很强的自我更新能力,并且可以无限地继续分裂。Zhu 等^[76]研究发现在培养基中添加适量的 L-抗坏血酸 2-磷酸能在保持肌细胞分化的同时加速细胞增殖。因此,改造细胞使其健康地进入“永生代”状态对研究人员来说是一项挑战。

高昂的成本是细胞培养肉规模生产面临的主要“卡脖子”问题。细胞培养肉的主要成本之一是细胞培养基,目前估计占产品成本的 55% 至 95% 以上^[77]。细胞培养肉生产系统中面临的另一挑战就是寻找成本低、效果好的培养基。寻找替代生长因子仍然是大规模显著降低细胞培养肉成本的一种有效方法^[78],另一种降低生产成本的方法是循环使用培养基及其中有效代谢物,包括有价值的细胞代谢物、细胞外或

信号蛋白、细胞因子和生长因子,当有效代谢物与新鲜培养基混合时,可支持细胞增殖和分化^[79]。生物反应器扩增期间条件培养基的再循环是实现培养基成本节约的另一种有效方法。

细胞培养技术生产的肉和普通肉的颜色不同,一般是因为肌红蛋白含量较低,血氧饱和度较高。一般解决的方法有两种,其一是在低氧条件下培养获得高肌红蛋白含量的细胞,其二便是加入植物来源的血红素和动物来源的血红蛋白或肌红蛋白。这为改善产品的质地、味道、气味、颜色等,开发出安全、天然的添加剂至关重要。

规模化生产的工艺、反应器设备尚不完善等问题导致细胞大规模培养受阻。通常为球体的微载体材料可大幅提高细胞培养密度,而生物反应器可提供一个三维空间,自动检测并调整内部环境,从而实现大规模培养,并使细胞增殖的生物过程得到一个良好的控制,使其可重复性得到保证。另外缺乏理想的细胞可依附生长的支架材料是细胞培养肉面临的又一难题,而植物蛋白支架和血管化可灌注支架的相关研究解决了水凝胶易降解以及机械性不足的缺陷,促进肌肉组织的形成,同时血管化的 3D 支架的研究有利于创造出具有一定厚度的高度结构化的肉^[80]。

3.3 细胞培养肉优势与市场前景

同传统畜牧业相比,培养肉的可持续性以及对生态环境的保护,是细胞培养肉的最大优势。它的出现直接把物质与能量精确到细胞上,对资源的效率利用更高,并且可以省去养殖、屠宰牲畜的环节,减少畜牧业对土地资源的争夺,降低土地、水等资源的使用,减少碳排放。另外,细胞培养肉还可以人工调节

蛋白质、脂肪含量、减少饱和脂肪酸成分,给予消费者更多选择,丰富肉类供应市场。此外,细胞培养肉能减少动物疾病以及食源性疾病的传播,减少抗生物滥用对人类的影响。

除了细胞培养肉的技术研究,相关营销、立法和产品商业化活动也呈现活力化的发展态势。在亚洲国家、以色列和美国,出现了一些可以尝试细胞培养肉产品的新餐馆。2020 年,国际上与细胞培养肉生产有关的主要公司有 55 家,截至 2022 年增加到近 100 家,其中美国和欧盟在细胞培养肉产业投资中占据先导地位,以色列和亚洲的一些公司也为研究和细胞培养肉市场的发展做出了重大贡献^[81]。2019 年 12 月 20 日,中国第一家细胞培养肉生产研发公司周子未来食品科技成功注册,这对我国细胞培养肉科学技术的发展、细胞培养肉的市场化应用产生推动作用^[82]。嘉吉、泰森食品、PHW、Migros 或格里莫德都属于传统蛋白质市场上的领军品牌,如今他们在细胞培养肉类生产中投入了大量资金^[83]。由于制作流程复杂、需要的技术先进、成本相对高昂,尚有许多国家并没有开始细胞培养肉的研究开发与推广,但在将来,细胞培养肉极有可能会像普通食物一样出现在市场上,甚至将在食品市场中占很大比例。

4 总结与展望

人造肉技术作为近几年提出的一种肉类替代品方案,有望缓解传统肉类生产导致的伦理、环境、食品安全和公共卫生等问题,具有广阔的市场前景和巨大的发展潜力。尽管近几年人造肉在商业市场上取得了较大进展,但仍需要继续研究以使其具有良好的肉类感官品质、良好的营养成分组成和较高的营养价值。

目前植物蛋白肉加工所面临的难题主要是与真实肉制品有很大差距,对食品原辅料及相关添加剂的研究可能使该问题得到改善;另外研究肉质纤维结构、结合物理挤压和酶法处理等方法来改良植物蛋白结构可能也是一个发展方向。真菌中加强对可食用菌的研究,通过深入研究并挖掘潜在可食用菌,提高食用安全性和生产加工性能,为优质菌类蛋白肉的生产提供更多选择;未来真菌类蛋白资源库的开发、细胞工厂的构建、高效生物转化蛋白核心技术的研创将成为缓解菌类蛋白质供应缺口问题重要攻克方向。针对细胞培养肉而言,一方面无血清或成分明确的细胞培养基的生产,进一步降低其成本是值得研究的问题;另外获取高分化能力种子细胞,提高细胞增殖和分化效率也是一个发展方向。同时基因工程技术、生物光子技术、纳米技术、3D 打印技术、离心浇铸技术、磁力驱动生物技术以及静电纺丝等新兴技术的发展,为人造肉产业化提供新的动力。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations. How to feed the world in 2050[R]. Rome: FAO, 2009.
- [2] WARNER R D. Review: Analysis of the process and drivers for cellular meat production[J]. *Animal*, 2019, 13(12): 3041–3058.
- [3] WILDING M D. Textured and shaped oilseed protein food products[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1971, 48(9): 489–491.
- [4] POST M J. Cultured beef: Medical technology to produce food[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(6): 1039–1041.
- [5] 丁世杰,李春保,周光宏.细胞培养肉技术及产业化进展与挑战[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(12): 33–41. [DING S J, LI C B, ZHOU G H, et al. Cell culture meat technology and industrialization progress and challenges[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2022, 22(12): 33–41.]
- [6] 陈洪雨,令狐昌丽,罗颖,等.食用真菌蛋白制备及其应用研究进展[J]. *食用菌学报*, 2021, 28(6): 188–198. [CHEN H Y, LINGHU C L, LUO Y, et al. Progress on the preparation and application of edible fungal protein[J]. *Journal of Edible Fungi*, 2021, 28(6): 188–198.]
- [7] BERGER R G, BORDEWICK S, KRAHE N K, et al. *Mycelium* vs. fruiting bodies of edible fungi-A comparison of metabolites[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(7): 1379.
- [8] 薛薇.植物蛋白肉的研究现状[J]. *食品工程*, 2021(4): 33–36. [XUE W. Research status of plant protein meat[J]. *Food Engineering*, 2021(4): 33–36.]
- [9] 陶毅.清异录[M].上海:上海古籍出版社,2012: 38. [TAO G. Qing Yi Lu [M]. Shanghai: Shanghai Ancient Books Publishing House, 2012: 38.]
- [10] KINSELLA J E, FRANZEN K L. Texturized proteins: Fabrication, flavoring, and nutrition[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1978, 10(2): 147–207.
- [11] 李顺秀,孙保剑,袁伟岗,等.浅析植物肉研究进展[J]. *食品工业*, 2023, 44(4): 247–252. [LI S X, SUN B J, YUAN W G, et al. An analysis of the research progress of plant meat[J]. *Food Industry*, 2023, 44(4): 247–252.]
- [12] DU Q, TU M, LIU J, et al. Plant-based meat analogs and fat substitutes, structuring technology and protein digestion: A review[J]. *Food Research International*, 2023(170): 112959.
- [13] 唐伟挺,余晓盈,邹苑,等.人造肉的研究现状、挑战及展望[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(6): 190–199. [TANG W T, YU X Y, ZOU Y, et al. Research status, challenges and prospects of artificial meat[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(6): 190–199.]
- [14] KUMAR P, CHATLI M K, MEHTA N, et al. Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(5): 923–932.
- [15] WANG Y, CAI W, LI L, et al. Recent advances in the processing and manufacturing of plant-based meat[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(3): 1276–1290.
- [16] 高智利,杨军飞.植物蛋白肉的研究进展与发展趋势[J]. *食品安全导刊*, 2021(12): 184–186. [GAO C L, YANG J F. Research progress and development trend of plant protein meat[J]. *Food Safety Journal*, 2021(12): 184–186.]
- [17] 欧雨嘉,郑明静,曾红亮,等.植物蛋白肉研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(12): 299–305. [OU Y J, ZHENG M J, ZENG H L, et al. Research progress of vegetable protein meat[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2020, 46(12): 299–305.]

- [18] GU B Y, RYU G H. Effects of barrel temperature and addition of corn starch on physical properties of extruded soy protein isolate[J]. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2018, 47(4): 485–491.
- [19] JIMENEZ-COLMENERO F, COFRADES S, HERRERO A M, et al. Konjac gel fat analogue for use in meat products: Comparison with pork fats[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(1): 63–72.
- [20] 岳程程, 王哲, 佟丽凤, 等. 水分添加量对高水分挤压大豆粕植物蛋白肉品质及结构特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(22): 52–60. [YUE C C, WANG Z, TONG L F, et al. Effect of moisture addition on the quality and structural characteristics of vegetable protein meat with high moisture extruded soybean meal[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2023, 44(22): 52–60.]
- [21] CARMO C, KNUTSEN S H, MALIZIA G, et al. Meat analogues from a faba bean concentrate can be generated by high moisture extrusion[J]. *Future Foods*, 2021, 3: 100014.
- [22] 陶相锦, 黄立强, 王冬玲, 等. 植物蛋白肉生产的关键因素分析[J]. *食品安全导刊*, 2023(30): 160–162. [TAO X J, HUANG L Q, WANG D L, et al. Analysis of key factors in the production of vegetable protein meat[J]. *Food Safety Journal*, 2023(30): 160–162.]
- [23] ISMAIL I, HWANG Y H, JOO S T, et al. Meat analog as future food: A review[J]. *Journal of Animal Science and Technology*, 2020, 62(2): 111–120.
- [24] 代欣欣. 植物肉生产原料、技术及产品特性研究进展[J]. *肉类研究*, 2023, 37(8): 61–69. [DAI X X. Progress in the study of raw materials, technology and product characteristics of plant-based meat production[J]. *Meat Research*, 2023, 37(8): 61–69.]
- [25] THAVAMANI A, SFERRA T J, SANKARARAMAN S, et al. Meet the meat alternatives: The value of alternative protein sources[J]. *Current Nutrition Reports*, 2020, 9(4): 346–355.
- [26] REIHANI S F S, KHOSRAVI-DARANI K. Influencing factors on single cell protein production by submerged fermentation: A review[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2018, 37: 34–40.
- [27] HASHEMPOUR-BALTORK F, KHOSRAVI-DARANI K, HOSSEINI H, et al. Mycoproteins as safe meat substitutes[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 253: 119958.
- [28] FINNIGAN T, NEEDHAM L, ABBOTT C. Mycoprotein: A healthy new protein with a low environmental impact[J]. *Sustainable Protein Sources*, 2017: 305–325.
- [29] SOUMYA G, RUSYN I, DMYTRUK O V, et al. Filamentous fungi for sustainable remediation of pharmaceutical compounds, heavy metal and oil hydrocarbons[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023(11): 1106973.
- [30] SUMAN G, NUPUR M, ANURADHA S, et al. Single cell protein production: A review[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2015, 4: 251–262.
- [31] RAVINDRA P, RUDRAVARAM R, CHANDEL A K, et al. Bio (single cell) protein: Issues of production, toxins and commercialisation status[J]. *Agricultural Wastes*, 2009: 129–154.
- [32] 刘梦然, 毛衍伟. 植物蛋白肉原料与工艺的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(4): 293–298. [LIU M R, MAO Y W. Research progress of raw materials and technology of vegetable protein meat[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(4): 293–298.]
- [33] 王广交, 辛嘉英, 崔添玉, 等. 去除单细胞蛋白中核酸方法的研究[J]. *饲料研究*, 2019, 42(3): 45–48. [WANG G J, XIN J Y, CUI T Y, et al. Elimination of nucleic acids from single-cell proteins[J]. *Feed Research*, 2019, 42(3): 45–48.]
- [34] ØVERLAND M. 利用可再生物质生产高品质单细胞蛋白质的生物技术[J]. *饲料工业*, 2019, 40(16): 60–64. [ØVERLAND M. Biotechnology for the production of high-quality single-cell proteins using renewable substances[J]. *Feed Industry*, 2019, 40(16): 60–64.]
- [35] HASHEMPOUR-BALTORK F, HOSSEINI H, SHOJAEI-ALIABADI S, et al. Drug resistance and the prevention strategies in food borne bacteria: An update review[J]. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2019, 9(3): 335–347.
- [36] DENNY A, BUTTRISS J. Plant foods and health: Focus on plant bioactives[J]. *Plant Foods & Health Focus on Plant Bioactives*, 2007, 4: 1–64.
- [37] 张金霞, 陈强, 黄晨阳, 等. 食用菌产业发展历史、现状与趋势[J]. *菌物学*, 2015, 34(4): 524–540. [ZHANG J X, CHEN Q, HUANG C Y, et al. Development history, current situation and trend of edible fungus industry[J]. *Journal of Microbiology*, 2015, 34(4): 524–540.]
- [38] SOUZA F P F, NAIR R B, ANDERSSON D, et al. Vegan-mycoprotein concentrate from pea-processing industry byproduct using edible filamentous fungi[J]. *Fungal Biology & Biotechnology*, 2018, 5(1): 1–10.
- [39] KIM K, CHOI B, LEE I, et al. Bioproduction of mushroom mycelium of *Agaricus bisporus* by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(9): 1561–1568.
- [40] SINKE P, SWARTZ E, SANCTORUM H, et al. Ex-antelife cycle assessment of commercial-scale cultivated meat production in 2030[J]. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 2023, 28: 234–254.
- [41] DOMINGO J L, NADAL M. Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 105: 256–261.
- [42] MICHA R, WALLACE S K, MOZAFFARIAN D. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis[J]. *Circulation*, 2010, 121(21): 2271–2283.
- [43] DU H, GUO Y, BENNETT D A, et al. Red meat, poultry and fish consumption and risk of diabetes: A 9 year prospective cohort study of the China Kadoorie Biobank[J]. *Diabetologia*, 2020, 63(4): 767–779.
- [44] DOMINGO J L, NADAL M. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat: What about environmental contaminants? [J]. *Environmental Research*, 2016, 145: 109–115.
- [45] GONZÁLEZ N, MARQUÈS M, NADAL M, et al. Meat consumption: Which are the current global risks? A review of recent (2010–2020) evidences[J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109341.
- [46] ONG K J, JOHNSTON J, DATAR I, et al. Food safety considerations and research priorities for the cultured meat and seafood industry[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(6): 5421–5448.
- [47] ZHENG Y Y, SHI Y F, ZHU H Z, et al. Quality evaluation of cultured meat with plant protein scaffold[J]. *Food Research International*, 2022, 161: 111818.
- [48] SONG W J, LIU P P, ZHENG Y Y, et al. Production of cultured fat with peanut wire-drawing protein scaffold and quality evaluation based on texture and volatile compounds analysis[J]. *Food Research International*, 2022, 160: 111636.
- [49] BODIOU V, MOUTSATSOU P, POST M J. Microcarriers for upscaling cultured meat production[J]. *Frontiers in Nutrition*,

2020(7): 10.

[50] REISS J, ROBERTSON S, SUZUKI M. Cell sources for cultivated meat: Applications and considerations throughout the production workflow[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7513.

[51] SEAH J S H, SINGH S, TAN L P, et al. Scaffolds for the manufacture of cultured meat[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2021, 42(2): 311–323.

[52] OZHAVA D, BHATIA M, FREMAN J, et al. Sustainable cell sources for cultivated meat[J]. *Journal of Biomedical Research & Environmental Sciences*, 2022, 3: 1382–1388.

[53] SHI X, GARRY D J. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease[J]. *Genes & Development*, 2006, 20(13): 1692–1708.

[54] KUMAR P, SHARMA N, SHARMA S, et al. *In-vitro* meat: A promising solution for sustainability of meat sector[J]. *Journal of Animal Science and Technology*, 2021, 63(4): 693–724. [53].

[55] PÉREZ-SERRANO R M, GONZÁLEZ-DÁVALOS M L, LOZANO-FLORES C, et al. PPAR agonists promote the differentiation of porcine bone marrow mesenchymal stem cells into the adipogenic and myogenic lineages[J]. *Cells Tissues Organs*, 2016, 203: 153–172.

[56] RAMÍREZ-ESPINOSA J J, GONZÁLEZ-DÁVALOS L, SHIMADA A, et al. Bovine (*bostaurus*) bone marrow mesenchymal cell differentiation to adipogenic and myogenic lineages[J]. *Cells Tissues Organs*, 2016, 201(1): 51–64.

[57] ZAGURY Y, IANOVICI I, LANDAU S, et al. Engineered marble-like bovine fat tissue for cultured meat[J]. *Communication Biology*, 2022, 5(1): 927.

[58] MACHOUR M, HEN N, GOLDFRACHT I, et al. Print-and-grow within a novel support material for 3D bioprinting and post-printing tissue growth[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(34): e2200882.

[59] BANERJEE K, JANA T, GHOSH Z, et al. PScrib: A database of regulatory interactions and networks of pluripotent stem cell lines[J]. *Journal of Biosciences*, 2020, 45: 53.

[60] 郑欧阳, 孙钦秀, 刘书成, 等. 细胞培养肉的挑战与发展前景[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(9): 314–320. [ZHENG O Y, SUN Q X, LIU S C, et al. Challenges and prospects of cell culture meat[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(9): 314–320.]

[61] DATAR I, BETTI M. Possibilities for an *in vitro* meat production system[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2010, 11(1): 13–22.

[62] BENJAMINSON M A, GILCHRIST J A, LORENZ M, et al. *In vitro* edible muscle protein production system (MPPS): Stage 1, fish[J]. *Acta Astronautica*, 2002, 51: 879–889.

[63] LEI Q Z, LI M, DU G C, et al. An effective cytokine combination for *ex vivo* expansion of porcine muscle stem cells[J]. *Food Bioscience*, 2022, 46: 101571.

[64] 关欣, 汪丹丹, 方佳华, 等. 细胞培养肉技术: 研究进展与未来展望[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(12): 1–13. [GUAN X, WANG D D, FANG J H, et al. Cell culture meat technique: Research progress and future prospects[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2022, 22(12): 1–13.]

[65] GUO Y, DING S J, DING X, et al. Effects of selected flavonoids on cell proliferation and differentiation of porcine muscle stem cells for cultured meat production[J]. *Food Res Int*, 2022, 160: 111459.

[66] BEN-ARYE T, SHANDALOV Y, BEN-SHAUL S, et al.

Textured soy protein scaffolds enable the generation of three-dimensional bovine skeletal muscle tissue for cell-based meat[J]. *Nature Food*, 2020, 1: 210–220.

[67] POST M J, LEVENBERG S, KAPLAN D L, et al. Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat[J]. *Nature Food*, 2020, 1: 403–415.

[68] ONG S, CHOUDHURY D, NAING W M. Cell-based meat: Current ambiguities with nomenclature[J]. *Trends in Food Science Technology*, 2020, 102: 223–231.

[69] KIM W, LEE H, LEE J, et al. Efficient myotube formation in 3D bioprinted tissue construct by biochemical and topographical cues[J]. *Biomaterials*, 2020, 230: 119632.

[70] OSTROVIDOV S, SHI X, ZHANG L, et al. Myotube formation on gelatin nanofibers–multi-walled carbon nanotubes hybrid scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 6268–6277.

[71] TOMIYAMA A J, KAWECKI N S, ROSENFELD D L, et al. Bridging the gap between the science of cultured meat and public perceptions[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 104: 144–152.

[72] JANDYAL M, MALAV O P, CHATLI M K, et al. 3D printing of meat: A new frontier of food from download to delicious: A review[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2021, 10: 2095–2111.

[73] MANDRYCKY C, WANG Z, KIM K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues[J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34: 422–434.

[74] JIAO A, TROSPER N E, YANG H S, et al. Thermoresponsive nanofabricated substratum for the engineering of three-dimensional tissues with layer-by-layer architectural control[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(5): 4430–4439.

[75] KIM E S, AHN E H, DVIR T, et al. Emerging nanotechnology approaches in tissue engineering and regenerative medicine[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 9(Suppl 1): 1–5.

[76] ZHU H, WU Z, DING X, et al. Production of cultured meat from pig muscle stem cells[J]. *Biomaterials*, 2022, 287: 121650.

[77] PARK Y H, GONG S P, KIM H Y, et al. Development of a serum-free defined system employing growth factors for preantral follicle culture[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2013, 80: 725–733.

[78] STOUT A J, MIRLIANI A B, WHITE E C, et al. Simple and effective serum-free medium for sustained expansion of bovine satellite cells for cell cultured meat[J]. *Communications Biology*, 2022, 5: 466.

[79] HENNINGSSEN J, RIGBOLT K T, BLAGOEV B, et al. Dynamics of the skeletal muscle secretome during myoblast differentiation[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2010, 9(11): 2482–2496.

[80] KADIM I T, MAHGOUB O, BAQIR S, et al. Cultured meat from muscle stem cells: A review of challenges and prospects[J]. *J Integr Agric*, 2015, 14(2): 222–233.

[81] 王雯慧. 细胞培养肉前路仍漫长[J]. *中国农村科技*, 2020(12): 20–23. [WANG W H. Cell culture is still a long way ahead[J]. *China's Rural Science and Technology*, 2020(12): 20–23.]

[82] RUBIO N R, FISH K D, TRIMMER B A, et al. Possibilities for engineered insect tissue as a food source[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2019, 3: 24.

[83] CHODKOWSKA K A, WÓDZ K, WOJCIECHOWSKI J. Sustainable future protein foods: The challenges and the future of cultivated meat[J]. *Foods*, 2022, 11(24): 4008.