

PSR Calabria 2014/2020 - Misura 16 Intervento 16.02.01 – “Sostegno a progetti pilota ed allo Sviluppo di nuovi prodotti, pratiche, processi e tecnologie nel settore agroalimentare e forestale” - annualità 2017.

**RELAZIONE SCIENTIFICA FINALE
DELLE ATTIVITÀ SVOLTE**

PROGETTO VAL.SAN.

**“VALORIZZAZIONE DELLA SANSA ATTRAVERSO IL SUO USO A FINI
MANGIMISTICI”**

CUP: J52C22000580005

Numero di domanda: 84250078148

Composizione del Partenariato:

Capofila del Progetto - Azienda agricola di CARMINE MOSCA

PP1 - Università *Mediterranea* di Reggio Calabria - Dipartimento di Agraria

PP2 - ARA - Associazione Regionale Allevatori della Calabria

PP3 - AGROCALABRIA S.R.L.

PP4 - INDUSTRIA PELLETS di Gavino Brescia

Responsabile Scientifico del Progetto

Prof. Pasquale Caparra

Dipartimento di Agraria,

Università degli Studi *Mediterranea* di Reggio Calabria

pasquale.caparra@unirc.it

Utilizzo di sanse vergini di oliva denocciolate e di semi di lino estrusi nella dieta di vitelli podolici: effetti sulle performance in vivo e alla macellazione e sulle caratteristiche qualitative della carne

1. Introduzione

Alla luce della crescente popolazione mondiale e della conseguente necessità di un uso oculato delle risorse alimentari e idriche, è fondamentale individuare soluzioni alternative per lo smaltimento dei sottoprodotti derivanti dal settore agroalimentare.

Negli ultimi anni, con l'attuazione di ambiziosi piani legati all'economia circolare, la politica internazionale ha iniziato a orientarsi verso un'economia più sostenibile, con l'obiettivo di minimizzare gli sprechi e reimpiegare i sottoprodotti. La reintroduzione dei rifiuti nel ciclo produttivo rappresenta infatti uno degli obiettivi principali, in quanto consente di ottenere nuove risorse da destinare alla produzione di beni e alla generazione di valore economico (Scarlet, 2013).

La gestione dei rifiuti costituisce inoltre un elemento chiave nelle strategie volte a ridurre le emissioni di gas serra, l'inquinamento atmosferico e idrico e i problemi sanitari. Il riscaldamento globale è infatti riconosciuto come il risultato di molteplici cause primarie, tra cui quelle derivanti dal settore zootecnico. Le principali fonti di emissioni di gas serra legate alla produzione di mangimi includono l'uso del suolo, il trasporto, la coltivazione e la trasformazione delle materie prime.

In tale contesto, l'inclusione di sottoprodotti agroindustriali nell'alimentazione animale può rappresentare una strategia chiave a livello globale per ridurre l'impatto ambientale sia della produzione zootecnica che delle attività agroindustriali. Alcuni di questi sottoprodotti sono ricchi di composti bioattivi e possono costituire una valida fonte di nuove risorse, con applicazioni rilevanti nel contesto dell'economia circolare e della sostenibilità (Sherwood et al., 2020). L'obiettivo di

un'economia a rifiuti zero (Zero Waste Economy) è proprio quello di reintegrare gli scarti nel ciclo produttivo, trasformandoli in nuove risorse (Sharma et al., 2021).

I sottoprodotti dell'industria agroalimentare possono essere riutilizzati trasformandoli in mangimi zootecnici, con vantaggi economici e ricadute socio-ambientali positive (Vasta et al., 2008). Poiché alcuni sottoprodotti contengono composti bioattivi come vitamine, minerali, polifenoli e acidi grassi insaturi, il loro impiego nell'alimentazione zootecnica può contribuire a migliorare la qualità e la stabilità di conservazione dei prodotti di origine animale, oltre a ridurre l'impronta di carbonio e le problematiche ambientali associate all'accumulo di scarti (Vasta et al., 2008; Gerber et al., 2014; Salami et al., 2019).

Esistono settori strategici dell'alimentazione animale in cui l'innovazione tecnologica è favorevolmente impiegata per il riutilizzo di sottoprodotti e residui agroalimentari, come ad esempio il potenziamento delle proprietà nutrizionali e funzionali degli alimenti. Alcuni sottoprodotti agroindustriali sono particolarmente ricchi di composti bioattivi con proprietà funzionali dimostrate, tra cui effetti antiossidanti, immunomodulanti e metabolici. Oltre al loro contributo nutrizionale, tali sottoprodotti possono essere strategicamente inclusi nelle diete animali per migliorare lo stato di salute degli animali e la qualità dei prodotti derivati. È stato dimostrato che l'inclusione di sottoprodotti agroindustriali nelle diete zootecniche migliora il profilo in acidi grassi, la stabilità ossidativa e la shelf life della carne, senza compromettere le performance produttive degli animali (Scerra et al., 2023; Scerra et al., 2022).

Il settore zootecnico può trarre vantaggi economici e ambientali dall'uso di sottoprodotti agroindustriali nei mangimi, incrementandone la sostenibilità e la redditività. Uno dei sottoprodotti agroindustriali più rilevanti nell'area mediterranea, nonché uno degli inquinanti principali derivanti dalla produzione di olio d'oliva, è la sansa di olive (OC). In particolare, recenti studi hanno esplorato la possibilità di recuperare i composti fenolici bioattivi contenuti nei sottoprodotti

dell'industria olearia e di impiegarli nelle strategie alimentari animali, con risultati promettenti in termini di sostenibilità e benefici funzionali (Cifuni et al., 2023).

L'interesse verso la sansa di olive è aumentato con il progredire delle conoscenze sugli impatti ambientali della sua gestione e sul valore commerciale di alcuni suoi componenti, come i polifenoli (García-González, 2010). Uno degli impieghi potenziali della sansa è proprio l'alimentazione animale, in linea con i principi dell'economia circolare dei paesi mediterranei. Le caratteristiche chimiche della sansa di olive dipendono dalla varietà di oliva, dalla proporzione delle sue componenti (buccia, polpa e nocciolo) e dal metodo di estrazione dell'olio (Alcaide & Nezaoui, 1996).

Oltre a rappresentare una fonte di composti polifenolici bioattivi, la sansa di olive costituisce un ingrediente ad elevato valore energetico grazie alla presenza di olio residuo, particolarmente ricco in acido oleico. Risposte positive all'integrazione della sansa sono state documentate in suini (Joven et al., 2014; Liotta et al., 2019; Caparra et al., 2023), bovini (Estaún et al., 2014), piccoli ruminanti (Caparra et al., 2003; Tzamaloukas et al., 2021), polli da carne (Herrero-Encinas et al., 2020) e conigli (Dal Bosco et al., 2012). Nei suini, l'aggiunta di sansa alla dieta può favorire una crescita migliore, ridurre lo spessore del grasso della carcassa, oppure fornire un apporto energetico supplementare nei ruminanti (Ferrer et al., 2020; Molina-Alcaide & Yáñez-Ruiz, 2008).

Pertanto, al fine di ridurre i costi di alimentazione introducendo al contempo una fonte dietetica di acido oleico e di composti bioattivi con proprietà antiossidanti, che possono contribuire a migliorare la qualità della carne, la sansa di olive denocciolata potrebbe essere utilizzata in sostituzione parziale degli ingredienti convenzionali della razione, come le farine di cereali.

Alla luce di queste considerazioni, il presente studio ha previsto l'inclusione dei semi di lino (*Linum usitatissimum*) insieme alla sansa di olive denocciolata, al fine di potenziare ulteriormente le proprietà nutrizionali e funzionali della dieta. I semi di lino destinati all'alimentazione animale sono

caratterizzati da un elevato contenuto in olio (40%), con una percentuale di acido α -linolenico (18:3 n-3) pari al 55% (Glasser et al., 2008). L'inclusione dei semi di lino nella dieta dei ruminanti incrementa il contenuto di acidi grassi polinsaturi, in particolare degli omega-3 (PUFA) (Marino et al., 2019). I prodotti derivati dai ruminanti contengono una gamma di acidi grassi, alcuni dei quali, come gli omega-3, possono avere effetti benefici sulla salute umana. Gli omega-3 presenti nella carne bovina comprendono sia l'acido 18:3 n-3 sia acidi grassi con 20 e 22 atomi di carbonio. Secondo Mills et al. (2011), gli acidi grassi omega-3 a lunga catena (20 e 22 atomi di carbonio) potrebbero contribuire a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari.

Oggi, i consumatori mostrano un interesse crescente verso conservanti naturali, in linea con la domanda di alimenti più salutari. Pertanto, offrire prodotti alimentari ad alto valore nutrizionale implica non solo la sostituzione dei conservanti sintetici con antiossidanti naturali, ma anche un miglioramento dei benefici salutistici e della durata di conservazione dei prodotti finali.

Scopo del presente progetto è stato quindi quello di verificare l'effetto dell'impiego della sansa vergine di olive disidratata e denocciolata in combinazione o meno con i semi di lino estrusi sulle performance in vivo e alla macellazione e sulle caratteristiche qualitative della carne di vitelli podolici, con particolare riferimento al processo di ossidazione, alla composizione acidica e alle caratteristiche sensoriali.

2. Materiali e metodi

2.1. Dichiarazione etica

Le procedure sperimentali di questo esperimento sono state valutate e approvate dal Comitato per il Benessere Animale dell'Università Mediterranea di Reggio Calabria (protocollo n. 3015/2023) e condotte secondo le linee guida internazionali sulla protezione degli animali utilizzati per la ricerca scientifica (Direttiva 2010/63 /UE).

2.2. Animali, diete e rilievi sperimentali

L'esperimento è stato condotto da febbraio a luglio 2023 nell'azienda agro-zootecnica di Carmine Mosca (Partner capofila del progetto) situata a Melissa in provincia di Crotone a 80 m sul livello del mare (latitudine: 39° 17' 46.712" N, longitudine: 17° 1' 34.651" W), che alleva bovini di razza Podolica per la produzione di carne (Figura 1).



Figura 1 – Centro ingrasso dell'azienda agro-zootecnica di Carmine Mosca (Partner capofila del progetto), Melissa (Crotone)

La Podolica è una razza bovina autoctona del Sud Italia, la troviamo soprattutto in Calabria e Basilicata, ed è particolarmente rustica, longeva e ben adattata a vivere in ambienti difficili con vegetazione di scarsa qualità (pascoli e arbusti autoctoni). Viene allevata con sistemi estensivi o semi-estensivi utilizzando ancora la pratica tradizionale della transumanza che consiste nella migrazione stagionale del bestiame che si sposta, lungo gli antichi sentieri detti “tratturi”, dalle zone collinari o montane a quelle di pianura, durante la stagione invernale, o viceversa durante la stagione estiva per trovare pascoli più adatti. L'allevamento dei bovini podolici è caratterizzato dalla

linea vacca-vitello dove i vitelli vengono allevati al pascolo con le madri e svezzati naturalmente quando hanno circa 7-8 mesi di età. Dopo lo svezzamento continuano a rimanere al pascolo fino a 10-11 mesi di età per poi essere spostati in sistemi di stabulazione costituiti da stalle aperte alimentati con mangimi concentrati e paglia fino alla macellazione a 15-16 o 17-18 mesi di età.

Il presente studio ha coinvolto 36 vitelli podolici che sono stati assegnati casualmente a quattro gruppi sperimentali di 9 animali ciascuno, bilanciati in base alla loro età (età media iniziale di 315.73 ± 19.40 giorni; media $\pm$ SD) e peso vivo (peso vivo medio iniziale di 304.31 ± 13.50 kg; media $\pm$ DS).

I vitelli podolici di ciascun trattamento sono stati alloggiati all'interno della stessa stalla a stabulazione libera di nuova costruzione in recinti contigui separati, con un'area di alimentazione/riposo e un'area di esercizio scoperta con uno spazio totale di 14.5 m^2 per capo. Ogni recinto era dotato di mangiatoie con spazio di alimentazione per animale di circa 0.80 m. Gli animali di ciascun gruppo sono stati alimentati con la stessa base foraggera costituita da paglia di frumento somministrata ad libitum una volta al giorno alle ore 7:30, ed uno dei seguenti concentrati sperimentali composti pellettati: i) un concentrato senza integrazione né di sansa di olive né di semi di lino estrusi (mangime concentrato tipo CON); ii) un mangime concentrato contenente il 30% tal quale di sansa di olive denocciolate senza integrazione di semi di lino estrusi (mangime concentrato tipo OC); iii) un mangime concentrato contenente il 15% tal quale di semi di lino estrusi senza integrazione di sansa di olive (mangime concentrato tipo EL); iv) un mangime concentrato contenente il 20% di sansa di olive denocciolate e il 10% di semi di lino estrusi (mangime concentrato tipo OCEL) (Tabella 1).

Tabella 1 - Composizione dei concentrati sperimentali somministrati ai vitelli Podolici

	Concentrati			
	CON	OC	EL	OCEL
<i>Ingredienti, % sul tal quale</i>				
Farina di Mais	23,50	15,60	20,40	15,00
Farina di Orzo	21,52	12,30	19,92	10,32
Cruschello di frumento	18,00	6,10	12,00	13,00
Farina di Favino	15,00	15,00	15,00	13,00
Farina di estrazione di soia, 46% ³	13,80	13,12	9,00	10,00
Semi di lino estrusi	0,00	0,00	15,00	10,00
Sansa di olive denocciolata	0,00	30,00	0,00	20,00
Polpa di barbabietola	4,50	4,20	5,00	5,00
Carbonato di calcio	1,30	1,30	1,30	1,30
Melassa di canna da zucchero	1,00	1,00	1,00	1,00
Lignosolfito	0,50	0,50	0,50	0,50
Bicarbonato di sodio	0,40	0,40	0,40	0,40
Cloruro di sodio	0,10	0,10	0,10	0,10
Ossido di magnesio	0,30	0,30	0,30	0,30
Premix minerale ¹	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix vitaminico ²	0,03	0,03	0,03	0,03

¹ Premix minerale, contenuto per chilogrammo: Cu (solfato di rame pentaidrato), 12 mg; I (iodato di calcio), 0,75 mg; Mn (ossido di manganese), 45 mg; Se (selenito di sodio), 0,20 mg; Zn (ossido di zinco), 65 mg; Zn (solfato di zinco monoidrato), 10 mg.

² Premix vitaminico, contenuto per chilogrammo: vitamina A (acetato di retinile), 6000 IU; vitamina D3 (colcalciferolo), 900 IU; niacina (acido nicotinico), 77,40 mg; vitamina B1 (tiamina monoidrato), 0,87 mg; vitamina B2 (riboflavina), 1,92 mg; vitamina E (DL- α -tocoferolo acetato), 15 mg.

³ 46% proteina grezza sulla sostanza secca.

I concentrati sperimentali sono stati somministrati a ciascun animale due volte al giorno alle 8:00 e alle 16:00, in rapporto di 1.7 kg (sul tal quale) ogni 100 kg di peso vivo e sono stati completamente consumati da tutti gli animali. La somministrazione del concentrato veniva adeguata ogni due settimane in base alla variazione del peso vivo. A tutti i vitelli l'acqua è stata somministrata ad libitum per tutta la durata della prova sperimentale. I concentrati utilizzati nell'esperimento sono stati formulati per essere isoproteici e isoenergetici. Il periodo di ingrasso è durato 170 giorni di cui 20 giorni come periodo di adattamento e 150 giorni come periodo sperimentale.

Durante l'intero periodo sperimentale, le condizioni generali di salute degli animali sono rimaste ottimali e non si sono verificate alterazioni di alcun tipo, soprattutto per quanto riguarda il sistema digestivo.

La sansa di olive utilizzata nell'esperimento è stata fornita dall'azienda olivicola AGROCALABRIA S.R.L. con certificazione biologica (azienda partner del progetto) situata a Belcastro in provincia di Catanzaro, che coltiva e trasforma le olive in olio extravergine biologico di elevata qualità, e di conseguenza produce sansa di olive biologica (Figura 2).



Figura 2 – Centro aziendale dell'azienda olivicola AGROCALABRIA S.R.L. partner del progetto

Nella presente ricerca abbiamo preferito utilizzare sansa di olive biologiche, prive di residui chimici di sintesi, per non compromettere l'immagine estremamente positiva del sistema di allevamento di tipo estensivo o semi-estensivo del bovino Podolico, metodo rispettoso dell'ambiente e degli animali che fornisce prodotti di alta qualità, particolarmente apprezzato dai consumatori.

La sansa di olive fresca è stata ottenuta da un impianto continuo a “due fasi e mezzo” (Gruppo Pieralisi S.p.A., Jesi, Italia) mediante “estrazione a freddo” (durante il processo di oleificazione la temperatura non supera mai i 27 °C) (Regolamento (UE) n. 29/2012 della Commissione) secondo le

seguenti condizioni operative: la frangitura delle olive è stata effettuata con frangitore a martelli, dotato di inverter per la regolazione variabile dei giri del rotore e di una griglia controrotante, che limita lo stress termico ed ossidativo della pasta di olive e, di conseguenza, consente di ottenere un prodotto di alta qualità; la gramolatura della pasta di olive è durata circa 45 minuti a 24-26 °C; l'estrazione dell'olio è stata effettuata mediante un estrattore centrifugo (decanter a due fasi e mezzo) modello Scorpion 5.9 (Pieralisi Group S.p.A., Jesi, Italia), che consente una significativa riduzione del consumo di acqua rispetto ai processi convenzionali, garantendo al contempo una maggiore concentrazione di polifenoli sia nell'olio che nella sansa di olive (Figura 3). Con questa tecnologia, il tenore di umidità della sansa ottenuta è di circa il 50%.



Figura 3 - Decanter mod. Scorpion 5.9 (Gruppo Pieralisi S.p.A., Jesi, Italia)

Per evitare elevate perdite di sostanze fitochimiche, antiossidanti e altri composti bioattivi, in questo esperimento abbiamo scelto di essiccare la sansa di olive umida a temperatura ambiente mediante un metodo ecologico, semplice ed economico sviluppato da una piccola industria locale partner del

progetto (Industria Pellets di Brescia Gavino), situata a Belcastro in provincia di Catanzaro, con il nostro supporto. Nel dettaglio, dopo l'estrazione dell'olio d'oliva, la sansa fresca vergine è stata trasportata, in un breve arco di tempo, dal frantoio a delle serre a ventilazione naturale, ricoperte con film in Polietilene stabilizzato ai raggi UV, per essere essiccata (Figura 4).

In queste serre la sansa è stata stesa sul pavimento di cemento in strati di circa 10-12 cm e periodicamente mescolata meccanicamente per accelerare il processo di essiccazione.



Figura 4 – Fase di essiccazione della sansa vergine d'oliva in serra a ventilazione naturale – Industria Pellets di Brescia Gavino partner del progetto

L'essiccazione è avvenuta per convezione naturale dell'aria senza l'utilizzo di sistemi aggiuntivi. La durata del processo di essiccazione è stata di 8-10 giorni. Una volta completata l'essiccazione, la sansa di olive è stata denocciolata utilizzando un vibrovaglio con maglie di 2 mm, e immediatamente pellettata (Figura 5) e confezionata, per garantire la massima qualità, dal partner Industria Pellets di Gavino Brescia, e quindi inviata ad un mangimificio per la produzione dei mangimi pellettati sperimentali (Tabella 1).



Figura 5 – Sansa vergine d’oliva pellettata

Le quantità totali di mangime consumate da ogni singolo animale sono state registrate giornalmente e analizzate per il contenuto di sostanza secca (in una stufa ad aria forzata a 105 °C) per valutare l’ingestione di sostanza secca. Le quantità di paglia somministrate e non consumate da ciascun gruppo di animale sono state registrate settimanalmente e analizzate per il contenuto di sostanza secca (in una stufa ad aria forzata a 105 °C) per valutare l’ingestione di sostanza secca.

Durante il periodo sperimentale, gli animali sono stati pesati individualmente ogni due settimane con una bilancia per bovini per adeguare la somministrazione dei concentrati e per determinare gli incrementi medi giornalieri e gli indici di conversione alimentare.

Nel corso dell'esperimento sono stati raccolti campioni rappresentativi dei concentrati e della paglia e sono stati prelevati anche campioni rappresentativi di sansa di olive essiccata e denocciolata utilizzata nell'esperimento, da sottoporre alle analisi di laboratorio.

2.3. Procedure di macellazione, caratteristiche delle carcasse e campionamento delle carni

Tutti gli animali sono stati macellati ad un'età media di $15,31 \pm 0,64$ mesi nello stabilimento di macellazione e lavorazione carni MONTAGNA S.P.A. a Corigliano Rossano (CS) (Figura 6), mediante taglio della gola dopo stordimento con proiettile captivo. Le procedure di macellazione sono state eseguite nel rispetto delle norme relative al benessere animale ai sensi del regolamento del Consiglio dell'UE (CE) n. 1099/2009 (CE, 2009).



Figura 6 - Stabilimento di macellazione e lavorazione carni MONTAGNA S.P.A.

Dopo la macellazione, le carcasse sono state pesate per ottenere il peso della carcassa a caldo e la resa di macellazione a caldo (calcolata come rapporto tra il peso della carcassa a caldo e il peso corporeo della macellazione).

Successivamente, le carcasse sono state divise in mezzene e quindi classificate soggettivamente in base ai punteggi di conformazione e stato di ingrassamento utilizzando lo schema di classificazione SEUROP delle carcasse bovine dell'Unione Europea (Regolamento del Consiglio 1183/2006/CE) con ciascun punteggio suddiviso in alto (+), medio (=) e basso (-). Il punteggio di conformazione delle carcasse variava da 18 (S+, molto buono) a 1 (P-, molto scarso) ed il punteggio dello stato di ingrassamento da 15 (5+, molto alto) a 1 (1-, molto basso). Una volta completato il tutto, le carcasse sono state conservate in una cella frigorifera a 2 ± 2 °C seguendo la procedura di refrigerazione di routine utilizzata nello stabilimento. Dopo 24 ore di refrigerazione, le carcasse sono state nuovamente pesate e sono state calcolate la percentuale della resa di macellazione a freddo ed il calo frigo. Successivamente, all'altezza della nona costola della mezzena destra, è stato misurato il colore del grasso sottocutaneo in triplo secondo le coordinate CIELAB L^* , a^* e b^* , in accordo con il sistema CIE, utilizzando un colorimetro portatile (Minolta CR300, Modello CR-300, Minolta Co., Ltd., Osaka, Giappone), con illuminante D65 e calibrato su una piastra bianca standard (Figura 7).

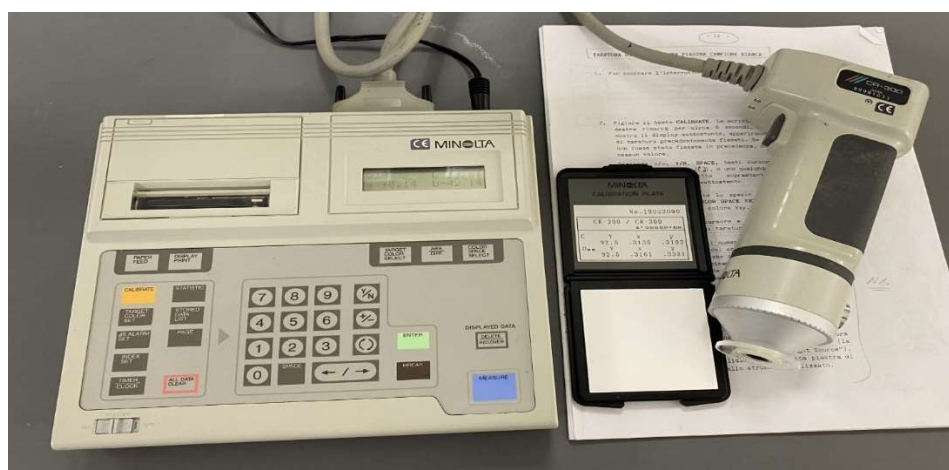


Figura 7 - Colorimetro portatile Minolta CR300

Il pH della carcassa è stato misurato a 1 e 24 ore post mortem utilizzando un pH-metro portatile (HI99163, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA) (Figura 8) dotato di elettrodo penetrante, inserito a circa tre centimetri nel muscolo *longissimus thoracis*, tra la settima e l'ottava vertebra toracica. L'elettrodo è stato calibrato a 14 °C (temperatura del mattatoio) con due tamponi (pH 7,0 e pH 4,0).

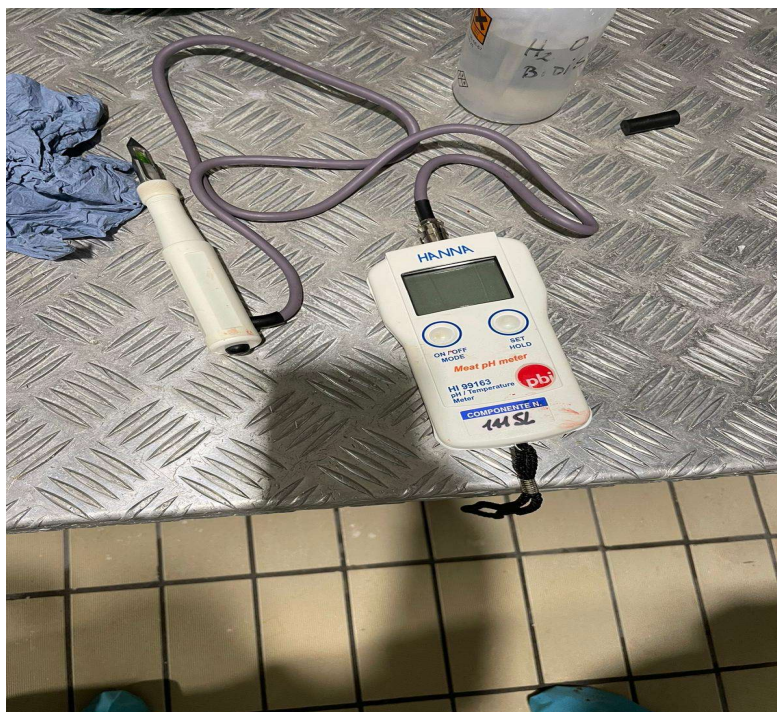


Figura 8 – pHmetro portatile (Hanna, HI 99163)

Dopo la misurazione del pH, effettuata dopo 48 ore di refrigerazione, da ciascuna mezzena destra è stata prelevata, in direzione cranio-caudale, la porzione del muscolo *Longissimus dorsi* compresa tra la sesta e la decima vertebra toracica, al fine di effettuare le analisi sull'ossidazione lipidica (TBARS) e sul colore (Figura 9).



Figura 9 – Confezionamento e catalogazione del muscolo Longissimus thoracis et lumborum (LTL)

2.4. Analisi chimiche degli alimenti (mangimi, paglia e sansa di olive) e della carne

Il contenuto di proteina grezza, estratto etereo e ceneri grezze nei campioni di mangime è stato determinato secondo le metodiche ufficiali AOAC (1995), rispettivamente le procedure 984.13, 920.39 e 942.05. (AOAC, 1995). L'analisi delle frazioni di fibre (NDF, ADF e ADL) è stata effettuata utilizzando il metodo di Van Soest, Robertson e Lewis (1991). Il metodo sviluppato da Gray et al., 1967 è stato utilizzato per determinare i lipidi per l'analisi degli acidi grassi.

Il contenuto totale di composti fenolici è stato determinato utilizzando il reagente di Folin-Ciocalteu secondo il metodo colorimetrico descritto da Verma et al. (2008) e Naczki & Shahidi (2006). L'estrazione e la quantificazione dei tocoferoli è stata valutata secondo Rachieru et al. (2009).

Il colore nei campioni di carne è stato misurato in triplice copia come le coordinate CIELAB L^* , a^* e b^* (CIE, 1986) utilizzando un colorimetro portatile Minolta CR300 (illuminante D65) calibrato su una piastrella bianca standard.

Infine, l'ossidazione dei lipidi nei campioni di carne è stata valutata secondo il metodo descritto da Siu e Draper 1978.

2.5. Contenuto fenolico totale (TPC)

I composti fenolici sono stati estratti secondo quanto descritto da Verma et al. (2008), con alcune modifiche. I mangimi in forma polverizzata (umidità 9%) sono stati miscelati con un solvente idroalcolico (etanolo all'80%) in un rapporto solvente/matrice grezza di 5:1. L'estrazione è stata condotta su piastra riscaldante a 60 °C, con agitazione costante per 60 minuti. Successivamente, gli estratti ottenuti sono stati centrifugati (10.000 rpm, 10 minuti, 4 °C), e il surnatante è stato recuperato, filtrato attraverso un imbuto di Büchner e conservato a -21 °C fino alle analisi successive.

Il contenuto totale di composti fenolici è stato determinato mediante il reattivo di Folin–Ciocalteu, secondo il metodo colorimetrico descritto da Verma et al. (2008) e da Naczki & Shahidi (2006), opportunamente modificato. In breve, 0,5 mL di estratto diluito (1:10) è stato miscelato con 2,5 mL di reattivo di Folin–Ciocalteu (10% v/v) e 2 mL di una soluzione di Na_2CO_3 (7,5% p/v). La miscela è stata incubata per 15 minuti a 45 °C, quindi lasciata raffreddare a temperatura ambiente per 30 minuti. L'assorbanza è stata letta a 765 nm, contro un bianco reagente (miscela di reazione priva di campione), utilizzando uno spettrofotometro UV-Vis a doppio raggio (Perkin-Elmer UV-Vis $\lambda 2$, Waltham, Massachusetts, USA).

Il contenuto fenolico totale è stato calcolato a partire da una curva di taratura dell'acido gallico (2-10 mg/L; $r = 0,999$) ed espressa in μg di acido gallico equivalente (GAE) g^{-1} di sostanza secca.

2.6. Estrazione e quantificazione dei tocoferoli mediante analisi HPLC

Il contenuto di tocoferoli è stato determinato seguendo il metodo descritto da Rachieru et al. (2009), con alcune modifiche. In particolare, 2 g di mangime essiccato e macinato sono stati sottoposti a saponificazione con una soluzione etanolica (55% v/v) contenente idrossido di potassio (11% p/v), mantenuta a 80 °C per 15 minuti. Successivamente, i campioni sono stati estratti con esano. La fase esanica è stata recuperata e concentrata mediante evaporazione sotto vuoto utilizzando un Rotavapor. Il residuo secco è stato poi disciolto in 200 µL di fase mobile.

Dopo filtrazione attraverso filtri a siringa in cellulosa (0,45 µm), 20 µL del campione sono stati iniettati in un sistema HPLC Knauer Smartline Pump 1000, equipaggiato con un rivelatore UV Smartline 2600 (Knauer, Germania) e una colonna a fase inversa C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm). La fase mobile era costituita da metanolo al 100%, con una portata di 1,5 mL/min e una temperatura di colonna mantenuta a 40 °C. I tocoferoli sono stati rilevati a 292 nm, e la quantificazione è stata effettuata mediante confronto con standard esterni, tra cui α -tocoferolo e DL- α -tocoferolo acetato (Sigma-Aldrich, USA). I risultati sono stati espressi in µg g⁻¹ di sostanza secca.

2.7. Ossidazione lipidica dei campioni di carne

Le fette di Longissimus Dorsi (LD) sono state avvolte con una pellicola permeabile all'ossigeno e conservate in frigorifero a 3 °C. Le analisi sono state eseguite sul prodotto fresco in diversi momenti di conservazione: all'inizio (T0), dopo 3 giorni (T3), 6 giorni (T6) e 10 giorni (T10).

L'ossidazione lipidica è stata valutata tramite l'analisi delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS) su campioni di muscolo *Longissimus Dorsi*, seguendo il metodo di Siu & Draper (1978). In particolare, 5 g di campione sono stati omogeneizzati con un ultraturrax (2 minuti a 13.000 rpm) in 15 mL di acido tricloroacetico (TCA) al 5% (p/v). L'omogeneizzato è stato quindi filtrato con carta da filtro Whatman 42 e, da questo, è stata prelevata un'aliquota di 4 mL a cui è stato aggiunto 1 mL di soluzione di acido tiobarbiturico (0,02 M). La miscela è stata incubata a 80 °C per 90

minuti per permettere lo sviluppo della reazione colorimetrica. Successivamente, l'assorbanza a 532 nm è stata misurata con uno spettrofotometro a doppio fascio (Shimadzu Corporation, Milano, Italia; modello UV-1800). I risultati sono stati espressi in mg di malondialdeide (MDA) per kg di carne.

2.8. Analisi statistica

I parametri produttivi e i dati sulla composizione in acidi grassi sono stati analizzati mediante un modello ANOVA (SAS 2009, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), utilizzando i trattamenti dietetici come fattore fisso. Le medie sono state confrontate tramite il test di Tukey, considerando significative le differenze per $p < 0,05$.

I dati relativi alla qualità della carne sono stati valutati attraverso un'analisi con modello misto (procedura GLM), che includeva come fattori fissi gli effetti della dieta, del tempo di conservazione e la loro interazione. Sono stati calcolati i valori medi dei minimi quadrati (LSM) e l'errore standard dei minimi quadrati (SEM). I confronti tra i valori LSM sono stati effettuati mediante il test di Tukey, considerando significative le differenze per $p < 0,05$.

3. Risultati

I risultati dei test per rilevare la presenza di micotossine nei campioni di panelli raccolti alla fine del processo di essiccazione indicano livelli trascurabili di contaminazione da micotossine (ben al di sotto dei livelli massimi fissati dalla Commissione europea: regolamento (UE) 2023/915 della Commissione) in tutti i campioni di sansa di olive analizzati.

Per quanto riguarda i tocoferoli, come si può vedere nella tabella 2, la maggior quantità di alfa-tocoferolo, come previsto, si trova nei mangimi in cui è presente la sansa di olive (OC e OCEL).

Tabella 2. Composizione chimico-nutrizionale dei concentrati sperimentali e della paglia utilizzati per la prova di ingrasso

	Paglia	Concentrati ¹			
		CON	OC	EL	OCEL
Composizione chimica					
Sostanza secca (SS), g/kg tal quale	903.2	902.9	907.8	908.4	908.7
Proteina grezza, g/kg SS	40.3	198.5	198.5	198.5	199.0
Estratto etereo, g/kg SS	14.7	23.6	62.5	67.3	82.6
Ceneri, g/kg DM	67.4	52.7	58.2	51.9	56.8
NDF ² , g/kg di MS	781.9	254.5	384.5	294.4	350.9
ADF ² , g/kg di MS	501.5	75.5	207.2	94.5	158.8
ADL ² , g/kg di MS	77.1	15.3	73.9	27.1	51.7
Energia netta ³ , UFC 2 ⁴ /kg SS	0.30	1.04	0.97	1.06	1.00
Composti fenolici totali, g ATE ⁴ /kg SS	1.18	6.14	15.05	7.67	14.44
Tocoferoli					
Tocoferoli totali, µg/g di SS		32.05	30.60	29.05	28.00
α-Tocoferolo (%)		79.56	86.93	61.62	82.50
γ-Tocoferolo (%)		18.41	11.44	37.18	16.07
δ-Tocoferolo (%)		2.03	1.63	1.20	1.43
Acidi grassi, % degli acidi grassi totali					
C12:0	0.01	0.02	0.03	0.22	0.05
C14:0	2.69	1.08	1.05	1.06	1.01
C16:0	52.44	21.44	12.79	9.28	12.45
C16:1 c	0.14	0.14	0.21	0.11	0.1
C18:0	9.47	1.87	1.92	1.77	2.68
C18:1 n-9	8.44	25.96	59.87	13.82	39.57
C18:2 n-6	16.76	45.08	19.23	24.98	21.62
C18:3 n-3	4.85	1.76	1.99	45.96	19.91
C20:0	0.43	0.19	0.16	0.32	0.12
Altri acidi grassi	4.77	2.46	2.75	2.48	2.49
Classi di acidi grassi					
SFA ²	65.04	24.6	15.95	12.65	16.31
MUFA ²	8.58	26.1	60.08	13.93	39.67
PUFA ²	21.61	46.84	21.22	70.94	41.53
n-3 PUFA ²	4.85	1.76	1.99	45.96	19.91
n-6 PUFA ²	16.76	45.08	19.23	24.98	21.62
Rapporto UFA/SFA ²	0.46	2.97	5.10	6.71	4.98

¹ CON= mangime non contenente né semi di lino né sansa di olive; OC= mangime contenente il 30% sul tal quale di sansa di olive denocciolate; EL= mangime contenente il 15% sul tal quale di semi di lino estrusi; OCEL= mangime contenente il 20% sul tal quale di sansa di olive denocciolate ed il 10% sul tal quale di semi di lino estrusi.

² Abbreviazioni: SS, sostanza secca; NDF, Fibra Neutro Detersa; ADF, Fibra Acido Detersa; ADL, Lignina Acido Detersa; UFC, Unità Foraggera Carne; SFA, acidi grassi saturi; UFA, acidi grassi insaturi; MUFA, acidi grassi monoinsaturi; PUFA, acidi grassi polinsaturi; UFA/SFA, rapporto acidi grassi insaturi/acidi grassi saturi.

³ Stimata utilizzando le equazioni suggerite dall'INRA (INRA, Alimentation des Ruminants; Editions Quae: Versailles, France, 2018).

⁴ La concentrazione dei composti fenolici è espressa come equivalenti di acido tannico (ATE).

Come previsto, l'acido oleico (C18:1 n-9 acid) e l'acido α -linolenico (C18:3 n-3) sono presenti in quantità maggiori nelle diete contenenti sansa di olive e semi di lino.

Come indicato nella tabella 3, i trattamenti dietetici non hanno avuto alcuna influenza sul peso della carcassa, sulla resa al macello, sul pH, sull'incremento medio giornaliero (IMG), sull'indice di conversione alimentare (ICA) e sul peso corporeo finale.

Tabella 3. Performances in vivo ed alla macellazione dei bovini Podolici

	Trattamenti ¹				E.S.M. ²	Significatività
	CON	OC	EL	OCEL		
Rilievi						
N. animali	9	9	9	9		
Età inizio prova (giorni)	314.50	315.63	316.75	316.03	7.66	NS
Peso vivo inizio prova (kg)	303.50	304.00	305.25	304.50	5.33	NS
Peso vivo fine prova (kg)	498.30	493.10	492.00	495.50	12.10	NS
Incremento Medio Giornaliero (kg/giorno)	1.30	1.26	1.25	1.27	0.04	NS
Peso carcassa a caldo (kg)	264.38	260.06	260.56	263.25	10.58	NS
Peso carcassa a freddo (kg)	259.50	255.25	255.56	258.31	10.43	NS
Resa a caldo (%)	52.95	52.70	52.87	53.09	0.55	NS
Resa a freddo (%)	51.96	51.73	51.85	52.10	0.54	NS
Calo di refrigerazione (%)	1.86	1.85	1.93	1.88	0.04	NS
Punteggio conf. della carcassa ³	8.00 (R)	7.88 (R)	8.00 (R)	8.00 (R)	0.62 (R)	NS
Punteggio adiposità carcassa ⁴	6.00	6.22	6.22	6.00	0.54	NS
pH dopo 1 ora <i>post mortem</i>	6.71	6.66	6.67	6.62	0.08	NS
pH dopo 24 ore <i>post mortem</i>	5.40	5.52	5.44	5.50	0.06	NS
Ingestione sostanza secca (kg/giorno)	8.70	8.54	8.63	8.43	0.23	NS
Indice di conversione alimentare (kg SS/kg incr.)	6.85	7.01	7.03	6.74	0.32	NS
Indice di conversione alimentare (% peso finale)	1.75	1.74	1,71	1.71	0.10	NS

¹ CON=non contenente né semi di lino né sansa di olive; OC = contenente il 30% di sansa di olive a pezzettini; EL = contenente il 15% di semi di lino estruso; OCEL = contenente il 10 % di semi di lino estruso e il 20 % di sansa di olive macinata.

² Errore standard della media (E.S.M.).

³ Secondo la classificazione EUROP, dove 15 = E+ molto buono, 1 = P molto scarso.

⁴ Secondo la scala dell'obesità, dove 15 = 5+ molto alto, 1 = 1 molto basso

Questi dati suggeriscono che la sostituzione parziale dell'alimentazione convenzionale con la sansa di olive non compromette in modo significativo la crescita degli animali, dimostrando così di essere un'opzione sostenibile.

Per quanto riguarda la stabilità ossidativa, la Figura 10 illustra i valori delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS), misurati nel corso del periodo di monitoraggio, che servono da indicatore della perossidazione lipidica nei campioni di carne.

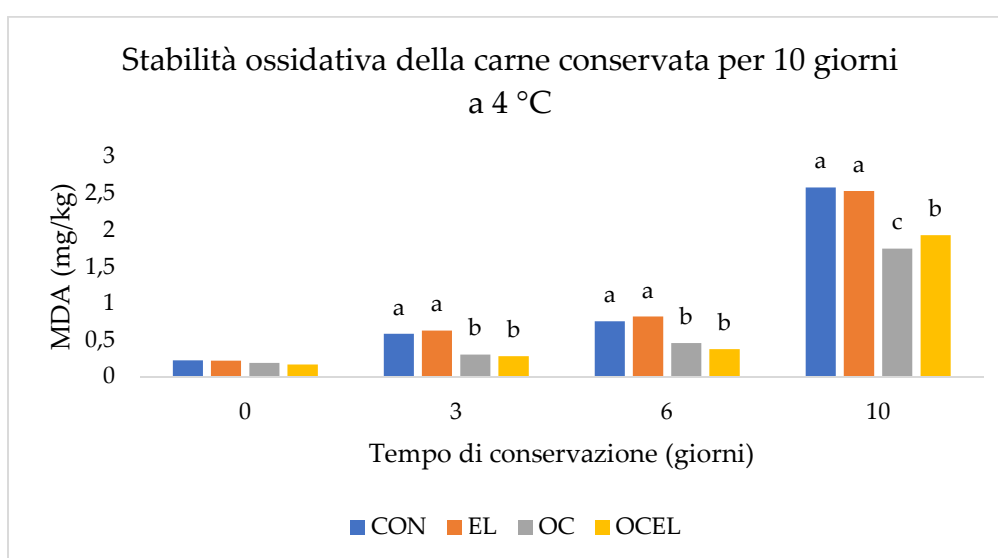


Fig.10 - Effetto del trattamento dietetico e tempo di conservazione sulla stabilità ossidativa del muscolo longissimus dorsi. I trattamenti sono stati: CON = non contenenti né semi di lino né sansa di olive; OC = contenente il 30% di sansa di olive denocciolata; EL = contenente il 15% di semi di lino estrusi; OCEL = contenente il 10% di semi di lino estruso e il 20% di sansa di olive denocciolata.

Effetto interattivo del trattamento alimentare (CON, EL, OC e OCEL) e del tempo di conservazione (0, 3, 6 e 10 d) sui valori TBARS misurati su campioni di carne durante la conservazione aerobica a 4°C. I valori presentati mostrano differenze altamente significative ($P < 0,001$).

I gruppi di controllo (CON) e semi di lino (EL) hanno mostrato un marcato aumento dei valori TBARS nel tempo, indicando una maggiore suscettibilità all'ossidazione lipidica. Ciò suggerisce una ridotta stabilità ossidativa in entrambi i gruppi, probabilmente dovuta all'assenza di sufficienti antiossidanti alimentari. In particolare, il gruppo EL, nonostante i vantaggi nutrizionali associati ai semi di lino, ricchi di acido alfa-linolenico, che possono effettivamente aumentare la vulnerabilità

dei lipidi della carne alla degradazione ossidativa, soprattutto quando non è controbilanciato da composti antiossidanti efficaci, ha mostrato livelli di TBARS comparabili a quelli del gruppo di controllo.

Al contrario, i gruppi OC (sansa di olive) e OCEL (sansa di olive + semi di lino), entrambi integrati con sansa di olive, hanno mostrato valori TBARS significativamente più bassi durante il periodo di conservazione di 10 giorni. Questo risultato riflette un marcato effetto antiossidante attribuibile ai composti polifenolici naturali presenti nella sansa di oliva, noti per le loro proprietà di cattura dei radicali liberi e di stabilizzazione dei lipidi. La capacità di tali composti di ritardare l'ossidazione lipidica sembra compensare la natura pro-ossidante degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) introdotti con i semi di lino, come evidenziato dalla migliore stabilità ossidativa riscontrata nel gruppo OCEL rispetto al gruppo EL.

I parametri di colore monitorati durante il periodo di conservazione refrigerata di 10 giorni sono presentati nella Tabella 4.

Tabella 4. Variazione di luminosità (L^*), indice del rosso (a^*), indice del giallo (b^*), croma (C^*) e tinta (H^*) nella carne durante la conservazione a 4° C per 10 giorni

Parametri	Tempo di conservazione (giorni)	Trattamenti dietetici				E.S.M.	Significatività		
		CON ¹	OC ¹	EL ¹	OCEL ¹		A ²	T ³	AxT
L^*	0	39.733 ^{Ac}	41.683 ^b	42.755 ^a	41.819 ^{Bb}	0.264	0.0001	NS	0.0001
	3	39.775 ^{Ab}	42.429 ^a	42.819 ^a	42.537 ^{Ba}				
	6	39.255 ^{Ac}	41.765 ^b	42.585 ^a	42.678 ^{Ab}				
	10	38.588 ^{Bc}	42.109 ^b	43.096 ^a	43.194 ^{Aa}				
a^*	0	17.491 ^A	18.193 ^A	17.894 ^A	18.189 ^A	0.311	0.0001	0.0001	0.0001
	3	13.547 ^{Bd}	16.229 ^{Bb}	14.467 ^{a.C.}	17.289 ^{Ba}				
	6	10.999 ^{Cc}	14.552 ^{Ca}	12.333 ^{Cb}	14.967 ^{Ca}				
	10	6.458 ^{Db}	8.235 ^{Da}	6.127 ^{Db}	8.695 ^{Da}				
b^*	0	11.069 ^{Ab}	13.405 ^{Aa}	12.92 ^{Aa}	13.49 ^{Aa}	0.232	0.0001	0.0001	0.0001
	3	9.210 ^{Bc}	12.958 ^{Aa}	10.003 ^{Bb}	13.040 ^{Aa}				
	6	8.425 ^{Cb}	11.699 ^{Ba}	8.164 ^{Cb}	12.202 ^{Ba}				
	10	8.208 ^{Cb}	9.520 ^{Ca}	7.740 ^{Cb}	9.741 ^{Ba}				
C^*	0	20.701 ^{Ab}	22.601 ^{Aa}	22.085 ^{Aa}	22.649 ^{Aa}	0.365	0.0001	0.0001	0.0001
	3	16.384 ^{Bc}	20.773 ^{Ba}	17.595 ^{Bb}	21.656 ^{Ba}				
	6	13.855 ^{Cb}	18.763 ^{Ca}	14.794 ^{Cb}	19.313 ^{Ca}				
	10	10.452 ^{Db}	12.590 ^{Da}	9.883 ^{Db}	13.060 ^{Da}				

H*	0	32.305 ^{Db}	36.425 ^{Da}	35.963 ^{Ba}	36.594 ^{Ca}	0.495	0.0001	0.0001	0.0001
	3	34.185 ^{Cc}	36.629 ^{Cb}	34.557 ^{Cc}	37.058 ^{Ca}				
	6	37.450 ^{Bb}	38.777 ^{Bab}	33.384 ^{Cc}	39.167 ^{Ba}				
	10	51.954 ^{Aa}	49.165 ^{Ab}	51.703 ^{Aa}	48.235 ^{Ab}				

Diverse lettere maiuscole nella stessa colonna indicano differenze significative $P < 0,0001$; Diverse lettere minuscole nella stessa riga indicano differenze significative $P < 0,0001$.

¹CON = non contenente né semi di lino né sansa di olive; OC = contenente il 30% di sansa di olive denocciolata; EL = contenente il 15% di semi interi di lino estrusi; OCEL = contenente il 10% di semi interi di lino estruso e il 20% di sansa di olive denocciolata.

²A = alimentazione

³T = tempo

L'inclusione nella dieta di sansa di olive (OC), semi di lino (EL) o della loro combinazione (OCEL) ha avuto un effetto significativo sull'evoluzione dei parametri colorimetrici della carne durante la conservazione in refrigerazione, come valutato mediante analisi colorimetrica strumentale (sistema CIE Lab*).

La luminosità (L^*) della carne è stata influenzata in modo significativo dal trattamento dietetico ($p < 0,001$) e dall'interazione tra trattamento e tempo di conservazione ($p < 0,001$), mentre il solo tempo di conservazione non ha mostrato effetti significativi ($p > 0,05$). Al giorno 0 (T_0), il gruppo di controllo (CON) ha mostrato il valore più basso di L^* , mentre valori più elevati sono stati osservati nei gruppi OC, EL e OCEL ($p < 0,001$). In particolare, la carne del gruppo EL ha mostrato valori di L^* leggermente superiori rispetto agli altri gruppi a T_0 . Al terzo giorno di conservazione refrigerata, i valori di L^* sono rimasti significativamente più alti nei gruppi OC, EL e OCEL rispetto al gruppo CON ($p < 0,001$). Al sesto giorno si è osservata una ulteriore riduzione della luminosità nel gruppo CON, mentre gli altri gruppi hanno mantenuto valori elevati ($p < 0,001$). Al decimo giorno, il gruppo CON presentava ancora il valore di L^* più basso, mentre i gruppi EL e OCEL mostravano la luminosità più elevata, seguiti dal gruppo OC ($p < 0,001$).

L'indice del rosso (a^*) si è mantenuto costantemente più elevato nei gruppi OC e OCEL rispetto a CON ed EL in tutti i tempi di conservazione ($p < 0,001$).

L'indice del giallo (b^*) al giorno 0 è risultato inferiore nel gruppo CON rispetto agli altri gruppi (OC, EL, OCEL), con differenze statisticamente significative ($p < 0,001$). Fino al tempo T10, i valori di b^* sono rimasti superiori nei gruppi OC e OCEL rispetto a CON ed EL ($p < 0,001$).

Il croma (C^*), che rappresenta la saturazione del colore, è stato significativamente influenzato dal trattamento ($p < 0,001$) e dalla sua interazione con il tempo ($p < 0,001$), mentre il solo tempo non ha avuto effetti significativi ($p > 0,05$). Al giorno 0, il gruppo CON presentava il valore di croma più basso. Dal terzo giorno in poi, i valori di C^* nei gruppi CON ed EL sono scesi sotto il valore soglia di 18, mentre nei gruppi OC e OCEL sono rimasti al di sopra di tale soglia fino al decimo giorno, indicando una maggiore stabilità dell'intensità cromatica in questi ultimi gruppi.

L'angolo di tonalità (H^*) è aumentato durante la conservazione in tutti i gruppi. Questo parametro è stato significativamente influenzato dal trattamento ($p < 0,001$) e dalla sua interazione con il tempo ($p < 0,001$). Al giorno 0, i gruppi OC e OCEL hanno mostrato valori di h^* più elevati rispetto a CON ed EL, indicando una tonalità più rossa alla baseline. Al giorno 3, i valori più alti sono stati registrati nel gruppo OCEL, seguiti da valori leggermente inferiori nel gruppo OC, e successivamente nei gruppi EL e CON ($p < 0,001$). Al giorno 6, il gruppo OCEL ha mantenuto i valori più elevati, seguito dal gruppo CON, mentre il gruppo OC ha mostrato valori comparabili a CON, e i valori più bassi sono stati osservati nel gruppo EL ($p < 0,001$). Al giorno 10, i valori più elevati sono stati registrati nei gruppi CON ed EL, mentre i gruppi OC e OCEL hanno mostrato valori leggermente inferiori.

4. Discussioni

Questo studio si è posto l'obiettivo di valutare gli effetti dell'impiego della sansa vergine di olive disidratata e denocciolata in combinazione o meno con i semi di lino estrusi sulle prestazioni produttive, sulle caratteristiche della carcassa e sulla stabilità ossidativa della carne di vitelli podolici. Questa razza rustica e autoctona, ben adattata a contesti ambientali marginali, è stata poco

studiata nell'ambito di strategie alimentari avanzate volte a migliorare sia la qualità del prodotto sia la sostenibilità (Molina-Alcaide & Yáñez-Ruiz, 2008). I risultati ottenuti forniscono solide evidenze a supporto dell'inclusione di sansa di olive e semi di lino come ingredienti funzionali nell'alimentazione animale. Questi prodotti hanno dimostrato la capacità di migliorare la stabilità ossidativa della carne senza compromettere le prestazioni di crescita né la resa in carcassa, sostenendo così la loro applicabilità in sistemi zootecnici volti a migliorare la resilienza e l'efficienza energetica.

Gli indicatori delle prestazioni di crescita, quali l'incremento medio giornaliero (IMG), il peso corporeo finale, l'ingestione della sostanza secca (DMI) e l'indice di conversione alimentare (ICA), non sono risultati significativamente influenzati dal trattamento dietetico, come evidenziato dai dati riportati in Tabella 3. Analogamente, il peso della carcassa e la resa al macello sono rimasti invariati tra i gruppi sperimentali. Questi risultati rivestono grande importanza nell'ambito di modelli di produzione zootecnica sostenibile, dove i sottoprodotti agroindustriali sono sempre più proposti come risorse alternative per l'alimentazione, al fine di mitigare l'impatto ambientale e ridurre la dipendenza da ingredienti convenzionali (Chiofalo et al., 2020). L'assenza di effetti negativi sulle prestazioni animali conferma la validità della sansa di olive e dei semi di lino come componenti alimentari che non compromettono né la produttività né la qualità della carcassa. In particolare, i miglioramenti osservati nella stabilità ossidativa sono stati ottenuti senza alcun peggioramento delle prestazioni, perseguendo così il duplice obiettivo di migliorare la qualità della carne mantenendo al contempo l'efficienza produttiva.

Dal punto di vista qualitativo, lo studio ha confermato l'ipotesi che le proprietà antiossidanti della sansa di olive contribuiscono in modo significativo alla stabilizzazione della carne durante la conservazione refrigerata, con particolare riguardo alla stabilità ossidativa e alla preservazione del colore. Tali effetti sono principalmente attribuibili alla presenza di composti bioattivi quali

idrossitirosolo, tirosolo e oleuropeina, noti per le loro potenti capacità di cattura dei radicali liberi e di chelazione dei metalli, insieme a tocoferoli naturalmente presenti (Martinez & Ros, 2018; Ponnampalam et al., 2022). Studi precedenti hanno evidenziato il ruolo antiossidante di questi fenoli e vitamine, che agiscono sinergicamente per inibire l'ossidazione lipidica e mantenere la mioglobina nelle sue forme ridotte. A sostegno di questo meccanismo, l'analisi dei tocoferoli ha rilevato concentrazioni significativamente elevate di α -tocoferolo nei gruppi integrati con sansa di olive (OC e OCEL), come riportato in Tabella 2, confermando un miglior profilo antiossidante della carne ottenuta.

La stabilità ossidativa e il colore della carne sono determinanti chiave della shelf life, della commerciabilità e della preferenza del consumatore. L'aspetto visivo della carne, in particolare il colore, rappresenta un indicatore primario di freschezza, con tonalità rosso ciliegia brillante che segnalano una qualità ottimale (Wang et al., 2021). Questa caratteristica è strettamente correlata allo stato di ossidoriduzione della mioglobina, che oscilla tra deossimioglobina (porpora), ossimioglobina (rosso brillante) e metamioglobina (marrone), come ampiamente descritto (Mancini et al., 2005). L'ossidazione dell'ossimioglobina a metamioglobina determina il cambiamento di colore e una conseguente diminuzione del valore commerciale (Geletu et al., 2021; Gómez et al., 2020; Amaral et al., 2018). Questo processo ossidativo è spesso accelerato dalla presenza di specie reattive dell'ossigeno (ROS), generate durante la perossidazione lipidica (Shahidi & Zhong, 2015).

L'analisi quantitativa dell'ossidazione lipidica, misurata tramite le sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS), ha evidenziato che i gruppi OC e OCEL presentano valori significativamente inferiori rispetto ai gruppi controllo (CON) e semi di lino (EL), con differenze altamente significative ($p < 0,001$). Questi valori ridotti di TBARS, mostrati in Figura 10, sono stati mantenuti per tutta la durata dei 10 giorni di conservazione refrigerata, sottolineando l'efficacia antiossidante della sansa di olive. Tali risultati sono in linea con precedenti studi che hanno

evidenziato i benefici dei sottoprodotti dell'olivo nel migliorare la stabilità ossidativa in agnelli, suini e pollame (Vasta et al., 2011), ampliando inoltre le conoscenze riguardo ai loro effetti sulla razza Podolica, finora poco indagata.

Sebbene il lino sia una fonte consolidata di acido α -linolenico (C18:3 n-3), che migliora il contenuto di acidi grassi polinsaturi omega-3 (PUFA) nella carne e quindi il profilo nutrizionale, il suo elevato grado di insaturazione ne aumenta la suscettibilità all'ossidazione (Kaić et al., 2025). In assenza di una protezione antiossidante adeguata, i PUFA possono accelerare la perossidazione lipidica compromettendo la qualità nutrizionale e organolettica della carne. In accordo con quanto sopra descritto, il gruppo EL ha mostrato valori di TBARS più elevati rispetto ai gruppi OC e OCEL, rafforzando la necessità di combinare fonti di PUFA con antiossidanti efficaci come quelli presenti nella sansa di olive (Mele et al., 2014).

Le valutazioni colorimetriche hanno confermato i dati biochimici. I valori di luminosità (L^*) e di indice del rosso (a^*) sono risultati significativamente più alti nei gruppi OC e OCEL rispetto al controllo fin dal giorno 0, mantenendosi stabili durante tutta la conservazione, a indicare una maggiore stabilità del colore e una riduzione dell'ossidazione della mioglobina. Il gruppo EL ha mostrato inizialmente i valori più alti di L^* , mantenendo un colore della carne costantemente più chiaro nel tempo (Conte et al., 2019). Come descritto nella Tabella 4, i miglioramenti osservati nei parametri colorimetrici sono particolarmente rilevanti in termini di attrattiva per il consumatore, poiché il colore della carne rappresenta uno dei fattori estrinseci più influenti nelle decisioni di acquisto. In particolare, i tagli con valori più elevati di luminosità (L^*) e indice del rosso (a^*) sono percepiti come più freschi e di qualità superiore, risultando quindi preferiti rispetto a quelli più scuri o meno vividi (Holman et al., 2016). Il mantenimento dell'indice del rosso nei gruppi integrati con sansa di olive riflette probabilmente il ruolo protettivo dei fenoli alimentari nella preservazione dell'ossimioglobina (Domínguez et al., 2019; Mokhtar et al., 2014). Il croma (C^*), indicativo della

saturatione del colore, è rimasto al di sopra della soglia di accettabilità per il consumatore (18) fino al giorno 6 nei gruppi OC e OCEL, mentre questa soglia è stata superata già al giorno 3 nei gruppi CON e EL (Ripoll et al., 2011). L'angolo di tonalità (H^*), che riflette la transizione dalle tonalità rosse a quelle marroni, è aumentato in tutti i gruppi durante la conservazione, ma in modo più graduale nei gruppi integrati con sansa di olive, confermando ulteriormente la loro superiore protezione ossidativa.

La valutazione di sicurezza della sansa di olive utilizzata nello studio ha dimostrato l'assenza di micotossine (European Commission: Commission Regulation (EU) 2023/915), convalidandone l'impiego come componente alimentare sicuro e sostenibile. Questi risultati si allineano con un crescente corpo di evidenze che supportano il ruolo dei polifenoli dietetici e degli antiossidanti naturali nel migliorare la stabilità e la qualità complessiva della carne (Muíño et al., 2017; Branciarì et al., 2015; Barriuso et al., 2013).

5. Conclusioni

Questo studio fornisce solide evidenze che l'inclusione nella dieta di vitelli podolici di sansa di olive vergine denocciolata (OC) migliora efficacemente la stabilità ossidativa e contribuisce al mantenimento del colore della carne, senza compromettere le prestazioni produttive. Infatti, le diete contenenti la sansa olive vergine (OC e OCEL) non hanno avuto effetti negativi sulle performance produttive, poiché parametri chiave come peso corporeo finale, incremento medio giornaliero, l'ingestione di sostanza secca e l'indice di conversione alimentare sono rimasti invariati. Questi risultati confermano la fattibilità di utilizzare sia OC che EL come componenti funzionali e sostenibili nelle strategie alimentari per ruminanti.

Un fattore cruciale per il successo osservato nello studio è stato il metodo di essiccazione della sansa, effettuato a temperatura ambiente. Questo processo delicato ha permesso di preservare i composti bioattivi contenuti nella sansa, garantendone l'efficacia nel migliorare la qualità e la

stabilità ossidativa della carne. La scelta dell'essiccazione a temperatura ambiente rappresenta quindi un importante avanzamento metodologico per l'uso pratico della sansa nell'alimentazione animale. Inoltre, questo sistema potrebbe essere ulteriormente ottimizzato adottando una serra con ventilazione forzata alimentata da pannelli fotovoltaici, e combinando un impianto di riscaldamento idronico a pavimento con un sistema a pannelli solari termici, migliorando l'efficienza dell'essiccazione, mantenendo la sostenibilità e riducendo i costi energetici.

Nelle diete con sansa (OC e OCEL) la maggiore stabilità ossidativa riscontrata nella carne può essere direttamente attribuita alla conservazione dei composti fenolici bioattivi, in particolare idrossitiroso e oleuropeina. Questi composti hanno efficacemente inibito la perossidazione lipidica durante la conservazione della carne e contribuito a mantenere la stabilità del colore, migliorando così le caratteristiche qualitative della carne essenziali per l'accettazione da parte del consumatore e il valore commerciale. Oltre ai benefici nutrizionali, la sansa rappresenta un promettente modello di economia circolare, valorizzando i sottoprodotti dell'industria olearia e riducendo gli scarti agricoli. Tuttavia, a causa dei potenziali effetti antinutrizionali legati a un'assunzione eccessiva di polifenoli, la sua inclusione nelle diete dei ruminanti deve essere bilanciata con attenzione e monitorata continuamente per evitare effetti avversi.

È importante sottolineare che il gruppo alimentato esclusivamente con semi di lino (EL) ha mostrato livelli maggiori di ossidazione lipidica, evidenziando l'importanza di una protezione antiossidante quando si utilizzano ingredienti ricchi di PUFA. La combinazione di sansa e semi di lino (OCEL) sembra rappresentare un approccio nutrizionale strategico, offrendo sia protezione ossidativa sia un arricchimento del profilo degli acidi grassi della carne, in linea con la crescente domanda di prodotti animali naturali e salutari.

Dal punto di vista della sostenibilità, la combinazione di sansa di olive e semi di lino rappresenta un'alternativa valida agli alimenti convenzionali, offrendo potenziali vantaggi nella riduzione degli impatti ambientali.

BIBLIOGRAFIA

1. Alcaide, E. M.; Nefzaoui, A. Recycling of Olive Oil By-Products: Possibilities of Utilization in Animal Nutrition. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 1996, 38, 227–235.
[https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(96\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(96)00055-8).
2. Amaral, A.B.; Silva, M.V.; Lannes, S.C.S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Sci. Technol.* 2018, 38, 1.
<https://doi.org/10.1590/fst.32518>.
3. AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 1995.
4. Barriuso, B.; Astiasarán, I.; Ansorena, D. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task. *Eur. Food Res. Technol.* 2013, 237, 1–15.
<https://doi.org/10.1007/s00217-012-1866-9>.
5. Branciari, R.; Ranucci, D.; Miraglia, D.; Urbani, S.; Esposto, S.; Servili, M. Effect of dietary treatment with olive oil by-product (olive cake) on physicochemical, sensory and microbial characteristics of beef during storage. *Ital. J. Food Saf.* 2015, 4, 225.
<https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.5496>.
6. Caparra, P.; Chies, L.; Scerra, M.; Foti, F.; Bognanno, M.; Cilione, C.; De Caria, P.; Claps, S.; Cifuni, G.F. Effect of Dietary Ensiled Olive Cake Supplementation on Performance and Meat Quality of Apulo-Calabrese Pigs. *Animals* 2023, 13, 2022.
<https://doi.org/10.3390/ani13122022>.
7. Caparra, P.; Foti, F.; Cilione, C.; Scerra, M.; Vottari, G.; Chies, L. Olive cake, citrus pulp and wheat straw silage as an ingredient in lamb diets: 1. Effects on growth and carcass characteristics. *Italian Journal of Animal Science* 2003, 2, S488–S490.
<https://doi.org/10.4081/ijas.2003.11676052>.

8. Chiofalo, V.; Liotta, L.; Lo Presti, V.; Gresta, F.; Di Rosa, A.R.; Chiofalo, B. Effect of Dietary Olive Cake Supplementation on Performance, Carcass Characteristics, and Meat Quality of Beef Cattle. *Animals* 2020, 10, 1176. <https://doi.org/10.3390/ani10071176>.
9. Cifuni, G.F.; Claps, S.; Morone, G.; Sepe, L.; Caparra, P.; Benincasa, C.; Pellegrino, M.; Perri, E. Valorization of Olive Mill Byproducts: Recovery of Biophenol Compounds and Application in Animal Feed. *Plants* 2023, 12, 3062. <https://doi.org/10.3390/plants12173062>.
10. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* 2023, L 119, 103–157.
11. Conte, G.; Serra, A.; Casarosa, L.; Ciucci, F.; Cappucci, A.; Bulleri, E.; Corrales-Retana, L.; Buccioni, A.; Mele, M. Effect of linseed supplementation on total longissimus muscle lipid composition and shelf-life of beef from young Maremmana bulls. *Front. Vet. Sci.* 2019, 5, 326. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00326>.
12. Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the Protection of Animals at the Time of Killing (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* 2009, 303, 1–30.
13. Dal Bosco, A.; Mourvaki, E.; Cardinali, R.; Servili, M.; Sebastiani, B.; Ruggeri, S.; Castellini, C. Effect of dietary supplementation with olive pomaces on the performance and meat quality of growing rabbits. *Meat Science* 2012, 92, 783–788. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.07.001>.
14. Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.J.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* 2019, 8, 429. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>.

15. Estaún, J.; Dosil, J.; Al Alami, A.; Gimeno, A.; De Vega, A. Effects of including olive cake in the diet on performance and rumen function of beef cattle. *Animal Production Science* 2014, 54, 1817–1821. <https://doi.org/10.1071/AN14411>.
16. European Union. Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council of 17 December 2013 establishing a common organisation of the markets in agricultural products and repealing Council Regulations (EEC) No 922/72, (EEC) No 234/79, (EC) No 1037/2001 and (EC) No 1234/2007. *Off. J. Eur. Union* 2013, L 347, 671–854.
17. Ferrer, P.; Calvet, S.; García-Rebollar, P.; Blas, C.; Jiménez-Belenguer, A.I.; Hernández, P.; Cerisuelo, A. Partially defatted olive cake in finishing pig diets: Implications on performance, faecal microbiota, carcass quality, slurry composition and gas emission. *Animal* 2020, 14, 426–434. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002040>.
18. García-González, D. L.; Aparicio, R. Research in Olive Oil: Challenges for the Near Future. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 12569–12577. <https://doi.org/10.1021/jf102735n>.
19. Geletu, U. S.; Usmael, M. A.; Mummed, Y. Y.; Ibrahim, A. M. (2021). Quality of cattle meat and its compositional constituents. *Veterinary medicine international*, 2021(1), 7340495. <https://doi.org/10.1155/2021/7340495>.
20. Gerber, P. J.; Uwizeye, A.; Schulte, R. P. O.; Opio, C. I.; de Boer, I. J. M. Nutrient Use Efficiency: A Valuable Approach to Benchmark the Sustainability of Nutrient Use in Global Livestock Production? *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 2014, 9–10, 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2014.09.007>.
21. Glasser, F.; Ferlay, A.; Chilliard, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 2008, 91, 4687–4703. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-0987>.

22. Gómez, I.; García-Varona, C.; Curiel-Fernández, M.; Ortega-Herás, M. Effects of an extract from olive fruits on the physicochemical properties, lipid oxidation and volatile compounds of beef patties. *Foods* 2020, 9, 1728. <https://doi.org/10.3390/foods9121728>.
23. Gray, I.K.; Rumsby, M.G.; Hawke, J.C. The variations in linolenic acid and galactolipid levels in Graminaceae species with age of tissue and light environment. *Phytochemistry* 1967, 6, 107–113. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(67\)85014-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(67)85014-3).
24. Herrero-Encinas, J.; Blanch, M.; Pastor, J.; Mereu, A.; Ipharraguerre, I.; Menoyo, D. Effects of a bioactive olive pomace extract from *Olea europaea* on growth performance, gut function, and intestinal microbiota in broiler chickens. *Poultry Science* 2020, 99, 2–10. <https://doi.org/10.3382/ps/pez467>.
25. Holman, B.W.B.; Mao, Y.; Coombs, C.E.O.; van de Ven, R.J.; Hopkins, D.L. Relationship between colorimetric (instrumental) evaluation and consumer-defined beef colour acceptability. *Meat Sci.* 2016, 121, 104–106. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.05.002>.
26. Joven, M.; Pintos, E.; Latorre, M. A.; Suárez-Belloch, J.; Guada, J. A.; Fondevila, M. Effect of Replacing Barley by Increasing Levels of Olive Cake in the Diet of Finishing Pigs: Growth Performances, Digestibility, Carcass, Meat and Fat Quality. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2014, 197, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.007>.
27. Kaić, A.; Škorput, D.; Luković, Z.; Salajpal, K.; Kljak, K.; Radovčić, N.M.; Karolyi, D. Effect of Linseed Feeding on Carcass and Meat Quality and Intramuscular Fatty Acid Profile of Simmental Bulls Slaughtered at Different Ages. *Foods* 2025, 14, 1098. <https://doi.org/10.3390/foods14071098>.
28. Liotta, L.; Chiofalo, V.; Lo Presti, V.; Chiofalo, B. In Vivo Performances, Carcass Traits, and Meat Quality of Pigs Fed Olive Cake Processing Waste. *Animals* 2019, 9, 1155. <https://doi.org/10.3390/ani9121155>.

29. Mancini, R.A.; Hunt, M.C. Current research in meat color. *Meat Sci.* 2005, 71, 100–121.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>.
30. Marino, R.; Della Malva, A.; Caroprese, M.; De Palo, P.; Santillo, A.; Sevi, A.; Albenzio, M. Effects of whole linseed supplementation and treatment duration on fatty acid profile and endogenous bioactive compounds of beef muscle. *Animal* 2019, 13, 444–452.
<https://doi.org/10.1017/S1751731118001635>.
31. Martinez, L.; Ros, G. Hydroxytyrosol: Health benefits and use as functional ingredient in meat. *Medicines* 2018, 5, 13. <https://doi.org/10.3390/medicines5010013>.
32. Mele, M.; Serra, A.; Pauselli, M.; Luciano, G.; Lanza, M.; Pennisi, P.; Conte, G.; Taticchi, A.; Esposto, S.; Morbidini, L. The Use of Stoned Olive Cake and Rolled Linseed in the Diet of Intensively Reared Lambs: Effect on the Intramuscular Fatty-Acid Composition. *Animals* 2014, 8, 152–162. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001924>.
33. Mills, S.; Ross, R.P.; Hill, C.; Fitzgerald, G.F.; Stanton, C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *International Dairy Journal* 2011, 21, 377–401. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.12.011>.
34. Mokhtar, S.M.; Youssef, K.M.; Morsy, N.E. The effects of natural antioxidants on colour, lipid stability and sensory evaluation of fresh beef patties stored at 4 °C. *J. Agroaliment. Process. Technol.* 2014, 20, 282–292.
35. Molina-Alcaide, E.; Yáñez-Ruiz, D.R. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology* 2008, 147, 247–264.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.021>.
36. Muño, I.; Díaz, M.T.; Apeleo, E.; Perez-Santaescolastica, C.; Rivas-Cañedo, A.; Pérez, C.; Cañeque, V.; Lauzurica, S.; de la Fuente, J. Valorisation of an extract from olive oil waste

- as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *J. Clean. Prod.* 2017, 140, 924–932. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.175>.
37. Naczk, M.; Shahidi, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006, 41, 1523–1542. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>.
38. Ponnampalam, E.N.; Kiani, A.; Santhiravel, S.; Holman, B.W.B.; Lauridsen, C.; Dunshea, F.R. The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: Antioxidant action, animal health, and product quality—Invited Review. *Animals* 2022, 12, 3279. <https://doi.org/10.3390/ani12233279>.
39. Rachieru, D.; Duca, R.; Olteanu, M. Validation of a method to determine vitamin E (alpha tocopherol) from feed ingredients by HPLC using reversed phase chromatography. *Lucr. Științ. Ser. Zooteh.* 2009, 52, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași.
40. Ripoll, G.; Casasús, I.; Albertí, P.; Blanco, M. Characteristics and meat quality evolution of veal produced in Mediterranean mountain areas. In XIV Symposium of Animal Production; Zaragoza, Spain, 2011; pp. 742–744.
41. Salami, S. A.; Luciano, G.; O’Grady, M. N.; Biondi, L.; Newbold, C. J.; Kerry, J. P.; Priolo, A. Sustainability of Feeding Plant By-Products: A Review of the Implications for Ruminant Meat Production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2019, 251, 37–55. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.02.006>.
42. Scarlet, D. Annex: A New Circular Economy Action Plan for a Cleaner and More Competitive Europe. *J. Chem. Inf. Model.* 2013, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

43. Scerra, M.; Bognanno, M.; Foti, F.; Caparra, P.; Cilione, C.; De Caria, P.; Fortugno, P.; Luciano, G.; Natalello, A.; Chies, L. (2023). Effect of high levels of almond hulls supplementation on performance and meat oxidative stability in lambs. *Meat science*, 205, 109295. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109295>.
44. Scerra, M.; Rao, R.; Foti, F.; Caparra, P.; Cilione, C.; Natalello, A.; Biondi, L.; Bella, M.S.; Chies, L. Influence of dietary inclusion of exhausted bergamot by-product in pigs on animal performance, fatty acid profile and oxidative stability of meat and meat products. *Animals*. 2022;12(6):757. <https://doi.org/10.3390/ani12060757>.
45. Shahidi, F.; Zhong, Y. Measurement of antioxidant activity. *J. Funct. Foods* 2015, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.
46. Sharma, P.; Gaur, V. K.; Sirohi, R.; Varjani, S.; Kim, S. H.; Wong, J. W. C. Sustainable Processing of Food Waste for Production of Bio-Based Products for Circular Bioeconomy. *Bioresour. Technol.* 2021, 325, 124684. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124684>.
47. Sherwood, J. The Significance of Biomass in a Circular Economy. *Bioresour. Technol.* 2020, 300, 122755. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122755>.
48. Siu, G.M.; Draper, H.H. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *J. Food Sci.* 1978, 43, 1147–1149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15256.x>.
49. Tzamaloukas, O.; Neofytou, M.C.; Simitzis, P.G. Application of olive by-products in livestock with emphasis on small ruminants: Implications on rumen function, growth performance, milk and meat quality. *Animals* 2021, 11, 531. <https://doi.org/10.3390/ani11020531>.
50. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

51. Vasta, V.; Luciano, G. The effects of dietary consumption of plant secondary compounds on small ruminants' product quality. *Small Rumin. Res.* 2011, 101, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.035>.
52. Vasta, V.; Nudda, A.; Cannas, A.; Lanza, M.; Priolo, A. Alternative Feed Resources and Their Effects on the Quality of Meat and Milk from Small Ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2008, 147, 223–246. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.020>.
53. Verma, B.; Hucl, P.; Chibbar, R.N. Phenolic content and antioxidant properties of bran in 51 wheat cultivars. *Cereal Chem.* 2008, 85, 544–549. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-4-0544>.
54. Wang, Y.; Domínguez, R.; Lorenzo, J.M.; Bohrer, B.M. The Relationship between Lipid Content in Ground Beef Patties with Rate of Discoloration and Lipid Oxidation during Simulated Retail Display. *Foods* 2021, 10, 1982. <https://doi.org/10.3390/foods10091982>.

Relazione dell'attività di ricerca svolta nell'ambito del contratto di collaborazione tra CREA e DIPARTIMENTO DI AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ "MEDITERRANEA" DI REGGIO CALABRIA (ex Art. 15) con oggetto "Caratterizzazione del profilo aromatico volatile (VOCs) della carne di bovino Podolico. -Applicazione di tecnologie rapide (SmarT Nose) per la discriminazione dei prodotti in relazione al sistema alimentare; -Analisi chemiometrica e redazione di report finale" (Lettera di incarico CREA-Registro Ufficiale N0.0873228 del 26/09/2023).

Nell'ambito del progetto, l'unità operativa CREA-ZA di Bella, si è occupata della caratterizzazione del profilo aromatico della carne cotta e dell'applicazione di tecniche chemiometriche per discriminare i prodotti in relazione al sistema di alimentazione.

L'obiettivo principale di questa attività del progetto è fornire un innovativo contributo alla valorizzazione dei prodotti carnei, attraverso l'individuazione di indicatori che ne determinano la specificità e consentono di discriminare e autenticare il prodotto in relazione al sistema alimentare.

Il sapore della carne è un fattore chiave per i consumatori (Han, Zhang, Fauconnier e Mi, 2020). La carne cruda ha solo un aroma "sanguinante" e metallico. Gran parte delle caratteristiche aromatiche della carne che si sviluppano durante la cottura derivano dall'interazione di precursori che generano circa un migliaio di composti aromatici volatili. Tra i fattori che influenzano gli aromi della carne cotta, le caratteristiche quantitative dei lipidi hanno un'importanza rilevante.

Il contenuto di grasso e la composizione di acidi grassi nei tessuti adiposi e nel grasso intramuscolare sono influenzati dalle specie o razze da carne, dal sistema di allevamento e dalla posizione anatomica della carcassa dell'animale (GonzalesBarron et al., 2021). Diversi trattamenti come taglio, disossamento e macinazione in presenza di luce e ossigeno (de Avila et al., 2022) e conservazione congelata (Al-Dalali, Li, & Xu, 2022) e diversi i metodi di cottura (ad es. stufatura, arrosto e grigliata) (Yu, Wang, Yin, Ge e Liao, 2021) influenzano l'ossidazione dei lipidi e quindi il profilo volatile della carne. L'ossidazione e la degradazione dei lipidi sono responsabili di più della metà dei composti volatili nella carne cotta. Si ritiene generalmente che questi composti volatili contribuiscano all'aroma della carne specifico della specie (Bravo-Lamas, Barron, Farmer e Aldai, 2018). La degradazione lipidica di solito genera aldeidi alifatiche, chetoni, alcoli, acidi, esteri, ecc., responsabili dell'aroma della carne specifico della specie animale (Bassam, Noleto-Dias, & Farag, 2022; Zhao et al., 2017). Le principali vie metaboliche responsabili della formazione dell'aroma nella carne cotta sono la reazione di Maillard tra composti amminici e zuccheri riducenti e la reazione di degradazione dei

lipidi (Liu et al., 2019; Zhao et al., 2017). La reazione di Maillard di solito produce composti contenenti zolfo, composti eterociclici contenenti azoto e composti eterociclici contenenti ossigeno, che contribuiscono all'aroma di base della carne. Inoltre, l'interazione tra la reazione di Maillard e la degradazione lipidica, cioè l'interazione lipido-Maillard, che può verificarsi, svolge anche un ruolo importante nella formazione dell'aroma della carne cotta (Wang et al., 2020; Zhao et al., 2017).

Inizialmente, la collaborazione è stata finalizzata alla messa a punto e verifica delle metodiche per la determinazione dei composti organici aromatici volatili nella carne cotta, responsabili dell'odore e dei sapori.

La problematica della scelta opportuna di un metodo analitico, per la determinazione dei composti volatili, responsabili dell'odore e del sapore della carne cotta, è, legata alla necessità primaria di evitare che vi sia discriminazione nell'efficienza di estrazione nei riguardi di sostanze organiche volatili di natura differenti. Nel caso dello studio di aromi presenti in matrici naturali, inoltre, si doveva tener conto del fatto che la composizione quali-quantitativa è regolata da processi biochimici e che gli interventi distruttivi operati attraverso le procedure di estrazione ed isolamento inducono spesso a modifiche nei rapporti quantitativi fra i componenti aromatici.

Sulla base di questi presupposti si è scelto di utilizzare una tecnica di estrazione e concentrazione delle sostanze aromatiche detta microestrazione in fase solida SPME in spazio di testa dinamico. Tale tecnica presenta il vantaggio di non utilizzare solventi organici e quindi ridurre le manipolazioni del campione, manipolazioni che possono portare alla formazione di artefatti, di ridurre i tempi di lavorazione e preparazione del campione ed i costi di analisi.

La tecnica di concentrazione/estrazione degli analiti mediante HS-SPME prevede una prima fase di concentrazione/estrazione dei componenti volatili mediante l'esposizione allo spazio di testa di una fibra in silice fusa rivestita da un film relativamente sottile di fase stazionaria polimerica. Durante questa fase si stabilisce un equilibrio tra le concentrazioni degli analiti presenti nello spazio di testa del campione e il rivestimento dei polimeri sulla fibra. La quantità di analita adsorbita sulla fibra dipende dallo spessore del polimero e dal tempo/temperatura di esposizione; la selettività può essere alterata attraverso il cambiamento del tipo di polimero di rivestimento o del suo spessore, in quanto i composti volatili richiedono un rivestimento più spesso rispetto ai composti semivolatili (Kataoka et al., 2000; Wardenki et al., 2004). Dopo un opportuno tempo di estrazione, la fibra viene ritirata nell'ago e rimossa dalla vial contenente il campione per essere inserita direttamente nell'iniettore del GC per la successiva fase di desorbimento. L'efficacia della preconcentrazione degli analiti usando la tecnica della SPME dipende da molti parametri come: il tipo di fibra, il volume del campione, il

tempo e la temperatura di estrazione, il metodo di estrazione, il desorbimento degli analiti dalla fibra e l'eventuale aggiunta di sale. (Supelco Note 56, 1998; Zhang e Pawliszyn, 1993).

Le analisi sono state effettuate su campioni di muscol LD provenienti da vitelloni Podolici sottoposti a differenti diete di finisaggio:

C = Controllo, alimentati con un concentrato senza integrazione né di sansa di olive né di semi di lino estrusi;

S = Sansa, alimentati con un mangime concentrato contenente il 30% tal quale di sansa di olive denocciolate;

L = Lino, alimentati con un mangime concentrato contenente il 15% tal quale di semi di lino estrusi;

SL = Sansa e Lino, alimentati con un mangime concentrato contenente il 20% di sansa di olive denocciolate e il 10% di semi di lino estrusi.

La composizione volatile della carne cotta è stata determinata utilizzando la microestrazione in fase solida (SPME), la separazione e l'identificazione è stata determinata mediante gascromatografia-accoppiata alla spettrometria di massa. 5 grammi di carne sono stati posti in una vials da 20 ml è sottoposta a cottura per 10 minuti a 140° C. Dopo cottura il campione raffreddato e sottoposto ad una agitazione a 600 rpm per 30 minuti a 40 ° C per accelerare l'equilibrio tra le concentrazioni degli analiti presenti nello spazio di testa del campione e il rivestimento polimerico della fibra (fase di equilibrio). L'adsorbimento è stato effettuato esponendo la fibra di divinilbenzene / carbossene / polidimetilsilossano da 50/30 micron (Supelco, Bellefonte, PA) nello spazio di testa della vials per 30 minuti a 40 °C ed un'agitazione a una velocità di 600 rpm.

Il desorbimento della fibra è stato eseguito, in modalità splitless, nell'iniettore del gascromatografo a 260 C per 3 minuti. I composti organici volatili sono stati separati in gas cromatografia utilizzando una colonna HP5 (30 m 0,25 µm 0,25 µm. Le condizioni usate per l'analisi GC sono state le seguenti: gas di trasporto, elio ad una velocità di flusso di 1 ml/min, pressione iniziale 52 kPa; temperatura della colonna iniziale 40°C per 4 minuti, incremento di temperatura di 3,5°C/min fino a 240°C per 3 minuti. Le condizioni per l'analisi in spettrometria di massa sono state: sorgente ionica ad impatto elettronico, 70 eV; temperatura interfaccia 250°C, temperatura sorgente ionica 200°C; mass range da 30 a 250 amu; velocità di scansione di 0,4 scan/s. I campioni sono stati analizzati in duplicato. L'identificazione degli spettri di massa ottenuti per ogni singolo composto è stata effettuata confrontando gli spettri presenti nelle librerie Wiley 8 e NIST10 e utilizzando il software di deconvoluzione dei picchi AMDIS 5. I risultati sono stati espressi come percentuale dell'area totale dei VOC identificati.

L'analisi dell'impronta olfattiva della carne è stata valutata utilizzando un naso elettronico (PEN3, AIRSENSE Analytics GmbH, Schwerin, Germania), che contiene 10 diversi sensori a semiconduttore di ossido metallico (MOS).

Un totale di 10 grammi di campione di carne cotta a 140 °C per 10 minuti è stato inserito in vials con spazio di testa da 50 mL e mantenuti a 30 °C per 60 minuti prima del rilevamento. Il tempo di lavaggio è stato di 150 s, il tempo di acquisizione è stato di 150 s e l'intervallo di campionamento è stato di 1 s. L'acquisizione e l'elaborazione dei dati del naso elettronico sono state eseguite utilizzando il software per workstation Winmuster 1.6.2.18. Ogni campione è stato ripetuto otto volte e i dati con risultati di misura stabili sono stati selezionati per l'analisi statistica. La descrizione delle prestazioni e l'intervallo di sensibilità ai gas dei 10 sensori di ossidi metallici sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Sensibilità dei sensori e limiti di rilevamento per la matrice di sensori PEN3

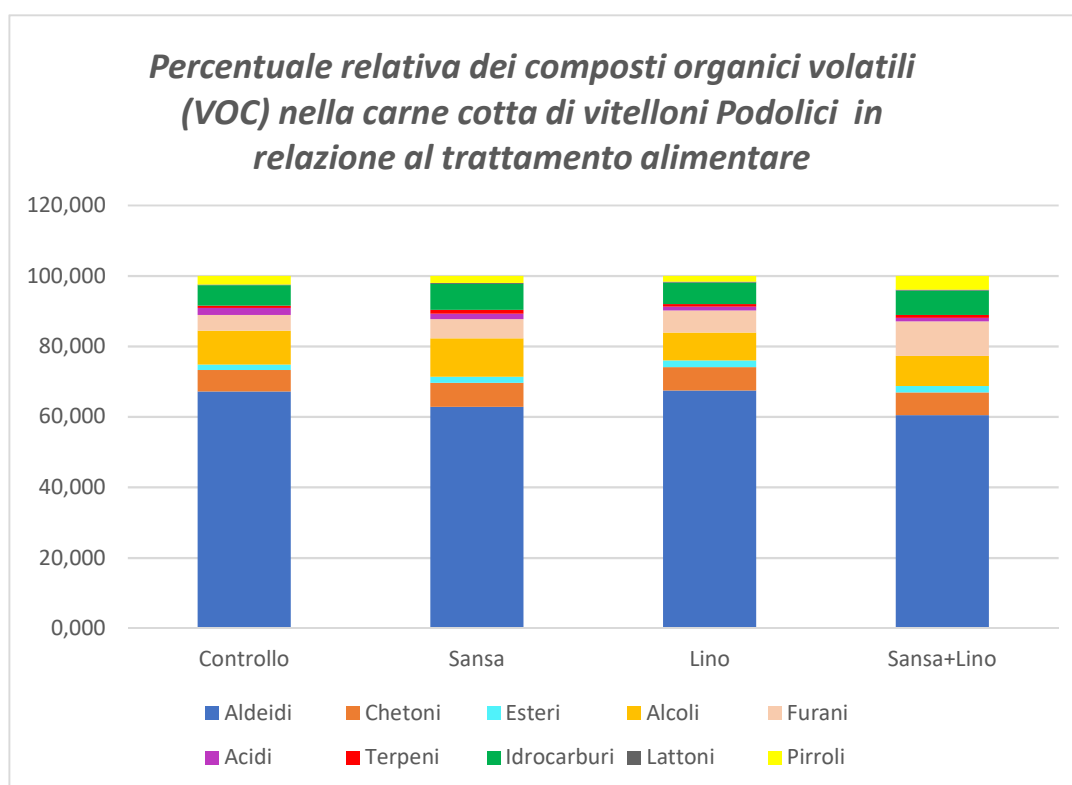
Sensor number	Sensor name ^a	Sensor description and sensitivities	Detection limits ^b
1	W1C	Aromatic organic compounds	Toluene, 10 mg kg ⁻¹
2	W5S	Very sensitive, broad range sensitivity, reacts to nitrogen oxides, very sensitive with negative signal	NO ₂ , 1 mg kg ⁻¹
3	W3C	Ammonia, also used as sensor for aromatic compounds	Benzene, 10 mg kg ⁻¹
4	W6S	Detects mainly hydrogen gas	H ₂ , 0.1 mg kg ⁻¹
5	W5C	Alkanes, aromatic compounds, and nonpolar organic compounds	Propane, 1 mg kg ⁻¹
6	W1S	Sensitive to methane. Broad range of organic compounds detected	CH ₄ , 100 mg kg ⁻¹
7	W1W	Detects inorganic sulfur compounds, e.g. H ₂ S. Also sensitive to many terpenes and sulfurcontaining organic compounds	H ₂ S, 1 mg kg ⁻¹
8	W2S	Detects alcohol, partially sensitive to aromatic compounds, broad range	CO, 100 mg kg ⁻¹
9	W2W	Aromatic compounds, inorganic sulfur and organic compounds	H ₂ S, 1 mg kg ⁻¹
10	W3S	Reacts to high concentrations (>100 mg/kg) of methane and aliphatic organic compounds	n.d.

RISULTATI

Sono stati identificati 69 composti volatili nei campioni di carne cotta (Tabella 2). I composti organici volatili (VOC) sono stati raggruppati secondo le loro famiglie chimiche: sono stati rilevati 22 aldeidi, 5 chetoni, 14 idrocarburi, 6 alcoli, 2 esteri, 4 furani, 4 acidi, 1 lattone ed 1 pirrolo. In tabella 2 sono riportati i composti identificati e la relativa percentuale in relazione al sistema alimentare

I composti più abbondanti in entrambi i gruppi sono le aldeidi che rappresentano circa il 64.48% (Figura 1).

Figura 1. Classi di composti organici totali in relazione al sistema alimentare



Le aldeidi sono principalmente prodotte dall'ossidazione dei lipidi ed un'elevata quantità di aldeidi può essere associata a una maggiore ossidazione degli acidi grassi polinsaturi (Elmore et al., 2005).

Per quanto riguarda il contenuto di aldeidi totali, i risultati evidenziano un minor contenuto di aldeidi totali ($P < 0.0001$) nella carne del gruppo alimentato con sansa rispetto agli altri 3 gruppi. Tale risultato potrebbe essere attribuito ad una maggiore stabilità ossidativa della carne del gruppo S, dovuto a sia alla presenza di maggior contenuto di polifenoli e tocoferoli ad azione antiossidante, che ad un minor contenuto di polinsaturi nella dieta S (Tabella 4).

Le aldeidi più abbondanti in tutti gruppi sono la nonale, octanale, esanale, la benzaldeide, la docanale, la 2- decenale e la 2 undecenale. (Figura 2). Tutte le aldeidi a catena lineare (esanale, eptanale,

ottanale, nonanale, decanale, undecanale, dodecanale, tetradecanale, esadecanale) provengono dalla degradazione degli acidi grassi insaturi e le aldeidi ramificate (2 e 3-metil butanale, benzaldeide, benzeneacetaldeide) derivanti dalla reazione di Maillard contribuiscono al sapore della carne grigliata (Wei et al., 2022).

La nonale, derivante dall'ossidazione dell'acido oleico, aumenta significativamente nella carne dei gruppi C, L e SL ($P < 0.0001$) rispetto alla carne del gruppo Sansa. Tale risultato, potrebbe essere attribuito ad una maggiore stabilità ossidativa della carne del gruppo S rispetto agli altri gruppi.

Il contenuto di esanale ed eptanale, derivante dall'ossidazione dell'acido linoleico ($C_{18:2n6}$; Elmore et al., 2005) diminuisce significativamente nella carne del gruppo SL ($P < 0.0001$, rispettivamente) rispetto alla carne degli altri gruppi sperimentali.

In generale, le aldeidi, con un numero di atomi di carbonio compreso tra sei e dieci, sono i principali composti volatili responsabili del sapore della carne cotta e si trovano in elevate concentrazioni in tutti i campioni sperimentali (Moran, Vivanco, Lorenzo, Barron e Aldai, 2022), la nonanale è il composto volatile più abbondante ed è responsabile del sapore di carne cotta nella specie bovina (Vilar, O'Sullivan, Kerry e Kilcawley, 2022).

Tutte le aldeidi a catena lineare (pentanale, esanale, eptanale, ottanale, nonanale, decanale, undecanale, dodecanale, tetradecanale, esadecanale) provengono dalla degradazione degli acidi grassi insaturi e le aldeidi ramificate (2 e 3-metil butanale, benzaldeide, benzeneacetaldeide) contribuiscono al sapore della carne grigliata (Wei et al., 2022).

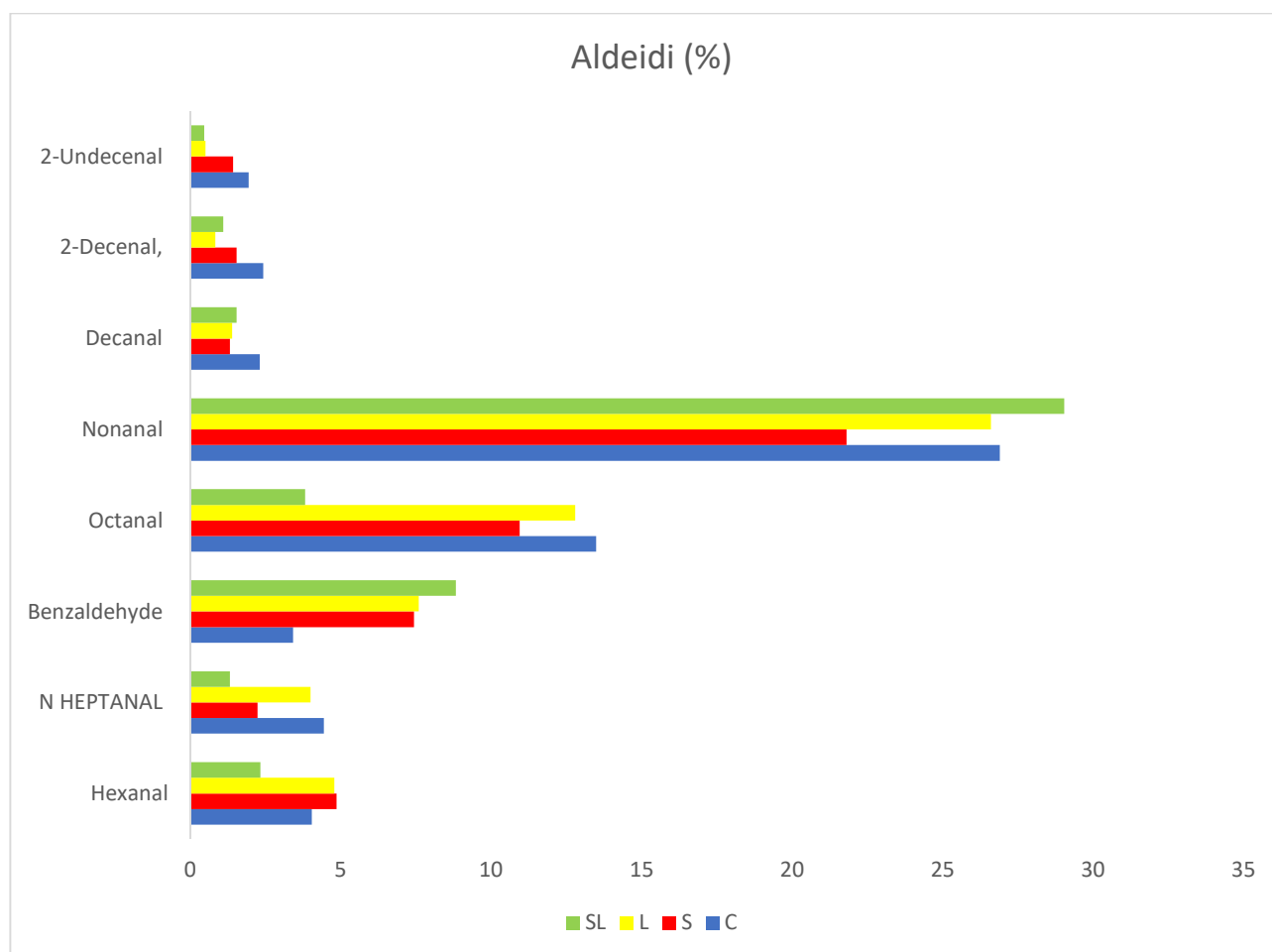
Gli alcoli rappresentano il 9.25 % del totale dei composti identificati nei 4 gruppi sperimentali tra cui l'1-octanolo, l'1-octen-3-olo e l'1-hexanol-2 ethyl sono i composti più abbondanti. Gli alcoli presenti nella carne cotta derivano principalmente dalla degradazione dei lipidi e da prodotti secondari della riduzione di aldeidi o composti carbonilici (Bueno, Resconi, Campo, Ferreira e Escudero, 2019).

La concentrazione totale di alcol rilevata è risultata elevata nella carne del gruppo alimentato con sansa ($P < 0.0001$). Il contenuto di 1-octanolo risulta minore nella carne del gruppo SL ($P < 0.0001$) rispetto agli altri 3 gruppi, 1-ottan-3-olo derivante dalla β -ossidazione di acidi grassi polinsaturi a catena lunga, in particolare dall'acido linoleico presenta valori più alti nella carne del gruppo S ($P < 0.001$).

Il contenuto di chetoni totali non è influenzato dal sistema di produzione ($P < 0.005$). I chetoni più abbondanti rilevati nell'acarne dei 4 gruppi sperimentali sono il 2-eptanone, il 2-nonanone ed il 2-decanone. Grazie al loro tipico odore e al loro basso valore soglia di percezione i chetoni e soprattutto i metilchetoni sono conosciuti per il loro importante contributo nel determinismo del profilo

aromatico della carne bovina cotta (Moran et al., 2022). Il 2-eptanone, il 2-nonanone ed il 2 – decanone sono i composti chetonici più abbondanti in tutti gruppi sperimentali.

Figura 2. Contenuto di aldeidi (%) in relazione al sistema alimentare

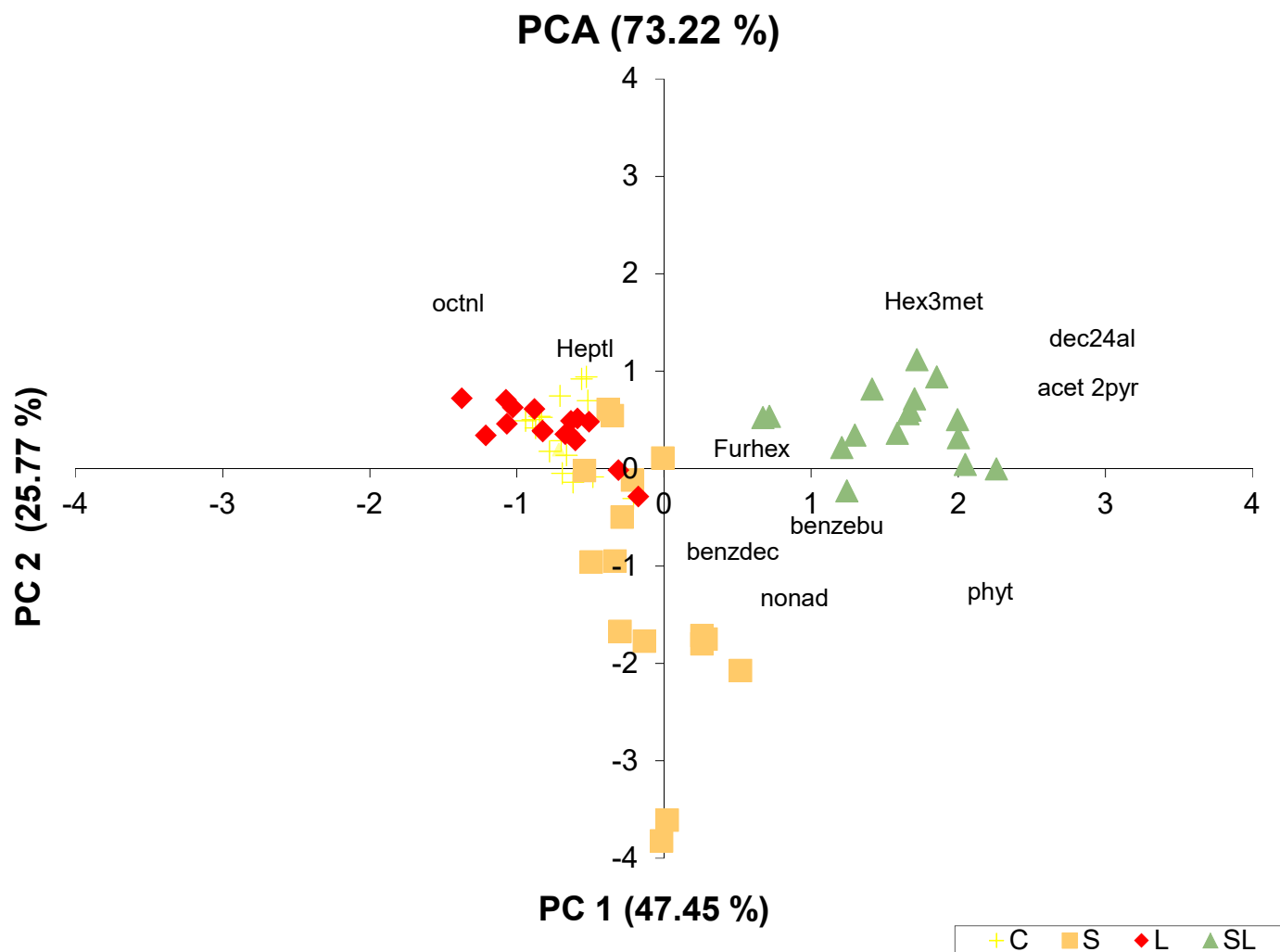


Il contenuto totale di idrocarburi aumenta nella carne del gruppo S e SL rispetto al controllo ($P < 0.001$). I principali idrocarburi identificati nella carne cotta sono ottano, dodecano, tridecano, pentadecano, esadecano ed eptadecano e ottadecano. Gli idrocarburi a catena lunga quali pentadecano, esadecano ed eptadecano hanno un impatto minore sull'odore e provengono principalmente e dalla decarbossilazione di acidi grassi saturi a lunga catena.

Pochissimi furani sono stati riscontrati nel profilo volatile della carne di vitellone cotta (Tabella 2) tra cui l'etil furano, il pentil furano, l'esil furano e l'ottil furano. Il contenuto di furani totali aumenta nella carne del gruppo SL e L. L'origine di questi composti è collegata a processi di ossidazione degli acidi grassi polinsaturi in particolare dell'acido linolenico. Il pentil furano deriva da processi di autossidazione dell'acido linolenico, mentre l'acido linoleico coniugato potrebbe produrre esilfurano,

ciò indica che i tipi di alchilfurano, che si formano durante la cottura dipenderebbero in larga misura dalle posizioni della tipologia di legame degli acidi polinsaturi presenti nella carne. I furani grazie al loro basso valore soglia contribuiscono alle note di odore di arrosto nella carne cotta (Brewer, 2006). Il contenuto del 2-acetilpirrolo, prodotto durante la cottura dalla reazione di Maillard, che coinvolge zuccheri riducenti e amminoacidi, aumenta nella carne del gruppo SL ($P < 0.0001$). Il 2-acetilpirrolo è responsabile delle note aromatiche di tostato e nocciola nella carne cotta contribuisce in modo significativo al profilo aromatico complesso di questi alimenti, esaltando le note umami e il sapore della carne.

Figura 3. PCA applicata ai di campioni di carne cotta in relazione al sistema alimentare.



Octn = ottanale, Heptl = eptanale, Hex3met = esanale 3 metile, Furhex =2-hexyl furano, dec24al= 2-4 decanediale, acet2pyr = acetil-pirrolo, benzebu=e benzene 1,1 butile , Phyt = fitane, benzdec =decil -benzene, nonaden = onadecane .

L'**analisi delle componenti principali (PCA)** è stata applicata per ridurre la dimensionalità dei dati e visualizzare le somiglianze tra i campioni. Questo metodo fornisce un nuovo insieme di variabili, ottenute come la migliore combinazione lineare dei parametri originali, in grado di catturare una maggiore varianza rispetto a qualsiasi altra combinazione. Nell'ambito della **chemometria**, la PCA consente di identificare le differenze tra i campioni e le variabili che contribuiscono maggiormente a tali differenze (Han et al., 2012).

La PCA standard è stata applicata alla composizione dei composti odorosi nei campioni di carne cotta, al fine di valutare le relazioni tra le diverse variabili e identificare i fattori di variabilità più rilevanti. Nel modello PCA sono stati inclusi solo i composti odorosi che presentavano differenze significative ($P \leq 0,05$).

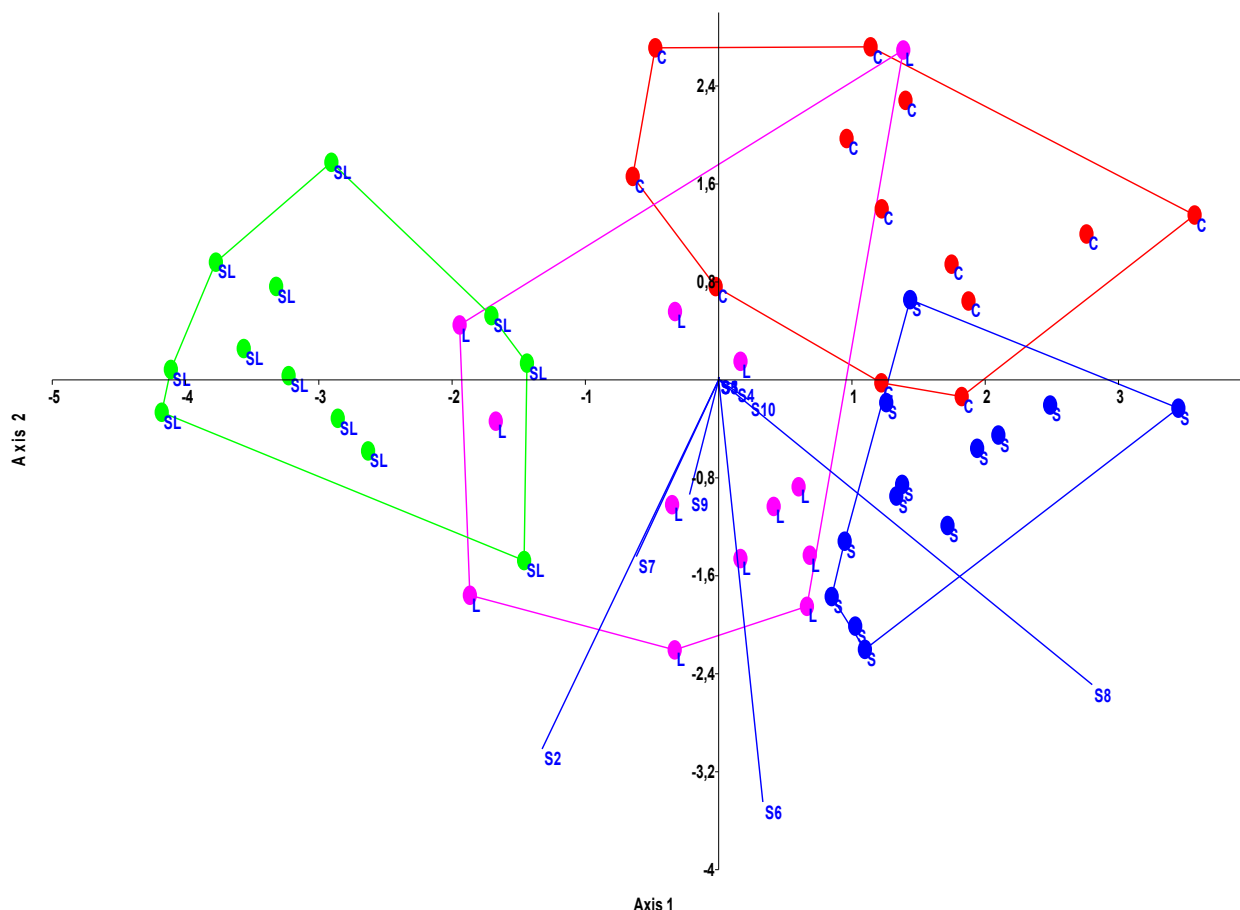
La Figura 3 mostra gli score e i loadings di correlazione ottenuti dall'analisi PCA. Gli score rappresentano i campioni di carne, mentre i loadings indicano le relazioni tra i singoli composti odorosi. Le prime due componenti principali, PC1 e PC2, spiegano complessivamente il 73,22% della varianza totale: PC1 il 47,45% e PC2 il 25,77%.

Il grafico degli score PC1 vs PC2 evidenzia che il gruppo SL è nettamente separato, mentre i gruppi Controllo, Sansa e Lino risultano parzialmente sovrapposti. Questo suggerisce che la carne proveniente da animali supplementati con sansa e lino combinati, presenta un profilo odoroso differente rispetto agli altri gruppi. Inoltre, si osserva che la supplementazione con solo sansa (S) o solo lino (L) non ha modificato significativamente il profilo aromatico della carne rispetto al gruppo controllo.

I composti organici volatili che hanno contribuito maggiormente alla variazione nell'analisi PCA sono: ottanale (loading negativo), 2-hexyl furano (loading positivo), esanale 3-metile (loading positivo), 2-4 decanediale (loading positivo), acetil-pirrolo (loading positivo), eptanale (loading negativo) per la PC1. La seconda componente principale (PC2) ha catturato la varianza associata a decil-benzene (loading negativo), fitane (loading negativo), nonadecane (loading negativo) e benzene 1,1 butile (loading negativo).

Confrontando gli score plot con i loading plot (Fig. 3), si osserva che i campioni del gruppo SL presentano livelli più elevati di esanale 3-metile, 2,4-decanediale, 2-esilfurano e acetil-pirrolo. I campioni dei gruppi C e L mostrano valori più alti di ottanale ed eptanale, mentre quelli del gruppo S sono associati a un contenuto maggiore di decil-benzene, fitano, nonadecano e benzene 1,1-butile. Tali risultati sono coerenti con i dati riportati nella Tabella 2.

Figura 4. E -nose analisi applicata ai di campioni di carne cotta in relazione al sistema alimentare.



Per valutare la capacità discriminante dell'analisi olfattometrica, le impronte olfattive dei campioni di carne cotta appartenenti ai 4 gruppi sono state elaborate utilizzando l'analisi delle componenti principali (PCA). Dalla figura 4 si evince una netta separazione dei campioni di carne cotta appartenente al gruppo SL, mentre le impronte olfattive dei gruppi S, C e L sono parzialmente sovrapposti. Tali risultati sono in accordo a quanto evidenziato nell'analisi del volatiloma, i campioni di carne del gruppo SL hanno una differente impronta aromatica rispetto al gruppo S, C ed L.

In conclusione, il trattamento alimentare ha influenzato il profilo aromatico della carne cotta. L'individuazione di molecole in grado di "marcare" il sistema alimentare rappresenta senza dubbio uno strumento di garanzia sia per il consumatore che viene tutelato da tentativi di frode e di imitazione, sia per il produttore che vede così accresciuto il valore delle sue produzioni. Inoltre,

imitando l'attività del naso umano, il naso elettronico può svolgere un ruolo importante nella discriminazione rapida oggettiva del prodotto in relazione al sistema alimentare.

Tabella2. Profilo aromatico (%) della carne cotta in relazione al sistema alimentare

Ret Time		C	Sansa	Lino	SL	SEM	P
1,650	2-Propanone	0.532 ^A	0.669 ^A	0.597 ^A	0.335 ^B	0.045	0.0001
1,739	Propanal, 2-methyl-	0.629 ^A	0.588 ^A	0.514 ^{AB}	0.349 ^B	0.044	0.0002
2,038	2,3-Butanedione	0.476 ^A	0.164 ^B	0.537 ^A	0.425 ^A	0.050	0.0001
2,069	2-Butanone	0.287 ^B	0.641 ^A	0.630 ^A	0.567 ^A	0.037	0.0001
3,14	2,3-Pentanedione	0.510 ^C	0.908 ^B	0.804 ^B	1.185 ^A	0.052	0.0001
3,217	Furan, 2-ethyl-	0.691 ^B	0.602 ^B	1.724 ^A	1.559 ^A	0.078	0.0001
5,759	Octane	0.749 ^{BC}	0.656 ^C	1.123 ^{AB}	1.299 ^A	0.102	0.0001
5,893	Hexanal	4.039 ^A	4.858 ^A	4.784 ^A	2.325 ^B	0.246	0.0001
11,617	2-Heptanone	1.156 ^{BC}	1.751 ^A	0.806 ^C	1.328 ^B	0.097	0.0001
11,768	Hexanal, 3-methyl-	0.419 ^{BA}	0.490 ^B	0.206 ^C	1.373 ^A	0.062	0.0001
12,159	Heptanal	4.433 ^A	2.233 ^B	3.994 ^A	1.311 ^C	0.220	0.0001
	Hexanoic acid, methyl ester	0.283 ^b	0.479 ^{ab}	0.574 ^a	0.538 ^a	0.056	0.0025
13,727							
15,597	Benzaldehyde	3.418 ^B	7.427 ^A	7.589 ^A	8.826 ^A	0.386	0.0001
16,774	1-Octen 3 olo	1.619 ^B	2.372 ^A	1.521 ^B	1.580 ^B	0.109	0.0001
		2.563 ^B	3.740 ^{AB}	3.451 ^B	4.755 ^A	0.322	0.0002
16,958	Furan, 2-pentyl-						
17,462	Octanal	13.483 ^A	10.946 ^B	12.786 ^A	3.815 ^C	0.436	0.0001
18,885	1-hexanol-2 ethyl	1.649 ^A	1.638 ^A	0.620 ^B	1.439 ^A	0.185	0.0005
19,247	Phenylacetaldehyde	0.783 ^B	1.172 ^A	0.810 ^B	1.044 ^{AB}	0.082	0.0032
19,709	2-Octenal, (E)-	0.945 ^A	0.805 ^A	0.419 ^B	0.684 ^{AB}	0.072	0.0001
20,551	1-Octanol	4.763 ^a	4.024 ^{ab}	4.282 ^{ab}	3.708 ^b	0.281	0.0479
20,745	2-Acetylpyrrole	2.480 ^B	2.013 ^{BC}	1.707 ^C	3.963 ^A	0.171	0.0001
20,833	Furan, 2-hexyl-	0.812 ^B	0.643 ^B	0.606 ^B	2.671 ^A	0.068	0.0001
21,065	2-Nonanone	1.175 ^B	0.938 ^B	2.064 ^A	1.317 ^B	0.196	0.0010
21,222	2-Hexyl-1-octanol	0.764 ^{ab}	0.871 ^{ab}	0.661 ^b	0.921 ^a	0.062	0.0234
21,456	Nonanal	26.900 ^A	21.813 ^B	26.606 ^A	29.047 ^A	1.049	0.0001
23,296	Z-2-nonenal	1.550	2.464	3.215	3.253	0.688	NS
	Benzaldehyde, 2,5-dimethyl-	0.702 ^B	0.627 ^B	0.599 ^B	0.977 ^A	0.065	0.0004
23,464							
23,732	1-Nonanol	0.491 ^B	1.692 ^A	0.579 ^B	0.814 ^B	0.091	0.0001
24,397	2-Decanone	1.255 ^A	1.110 ^A	0.814 ^B	0.795 ^B	0.060	0.0001
24,528	Dodecane	0.817 ^{AB}	0.636 ^B	0.647 ^B	1.004 ^A	0.051	0.0001
24,775	Decanal	2.301 ^A	1.318 ^B	1.386 ^B	1.536 ^B	0.083	0.0001
	Nonanoic acid, methyl ester	0.261 ^B	0.341 ^{AB}	0.404 ^A	0.292 ^B	0.028	0.0051
25,347							
26,483	2-Decenal	2.421 ^A	1.535 ^B	0.829 ^C	1.088 ^C	0.074	0.0001
26,922	1-Undecene	0.451 ^B	0.614 ^A	0.475 ^{AB}	0.398 ^B	0.041	0.0037
27,358	2-n-Octylfuran	0.391	0.386	0.459	0.347	0.047	NS
27,452	Tridecane	0.740 ^B	1.163 ^A	1.231 ^A	0.780 ^B	0.079	0.0001
28,07	2,4 decadienal	0.476 ^B	0.545 ^B	0.478 ^B	1.382 ^A	0.068	0.0001



29,056	2-methylpropanoate	0.290	0.316	0.331	0.339	0.026	NS
29,318	2-Undecenal	1.939 ^A	1.415 ^A	0.499 ^B	0.463 ^B	0.149	0.0001
29,586	Butanoic acid, butyl ester	0.358	0.331	0.362	0.423	0.033	NS
29,963	decanoic	0.499 ^A	0.258 ^B	0.288 ^B	0.343 ^B	0.041	0.0006
30,124	Tetradecane	0.499	0.443	0.427	0.386	0.041	NS
30,553	Dodecanal	0.496 ^C	1.190 ^A	0.700 ^B	0.739 ^B	0.049	0.0001
31,594	cis-Geranylacetone	0.216 ^{AB}	0.248 ^{AB}	0.163 ^B	0.308 ^A	0.027	0.0044
31,987	Nonadecane	0.181 ^C	0.889 ^A	0.287 ^C	0.602 ^B	0.065	0.0001
32,203	1-Dodecanol	0.361	0.320	0.278	0.250	0.057	NS
32,499	1-Tridecene	0.263	0.279	0.300	0.213	0.041	NS
32,674	Pentadecane	0.596 ^B	0.523 ^B	0.298 ^C	0.860 ^A	0.057	0.0001
33,051	Tridecanal	0.317 ^{AB}	0.339 ^A	0.226 ^B	0.332 ^A	0.026	0.0112
33,319	Dodecanoic acid, methyl ester	0.381 ^A	0.254 ^B	0.172 ^C	0.232 ^{BC}	0.021	0.0001
34,76	dodecanoic acid	0.557 ^A	0.509 ^A	0.287 ^B	0.232 ^B	0.039	0.0001
35,07	Hexadecane	0.638 ^A	0.512 ^A	0.197 ^B	0.292 ^B	0.036	0.0001
35,417	Tetradecanal	0.496 ^A	0.392 ^A	0.248 ^B	0.419 ^A	0.034	0.0001
35,75	Benzene, 1,1'-butylidenebis-	0.186 ^B	0.347 ^A	0.142 ^B	0.208 ^B	0.030	0.0001
36,802	Benzene, decyl-	0.183 ^B	0.303 ^A	0.130 ^B	0.136 ^B	0.027	0.0001
36,87	Pentadecanal	0.173	0.223	0.277	0.273	0.030	NS
37,16	Heptadecane	0.161 ^C	0.364 ^A	0.299 ^{AB}	0.225 ^{BC}	0.027	0.0001
37,353	2-Pentadecanone	0.485 ^A	0.355 ^{AB}	0.248 ^B	0.246 ^B	0.039	0.0001
37,691	16-octadecenal	0.433	0.447	0.619	0.571	0.051	NS
38,998	Tetradecanoic acid	0.430 ^A	0.276 ^B	0.235 ^{BC}	0.154 ^C	0.031	0.0001
39,069	Octadecanal	0.298 ^{AB}	0.346 ^A	0.241 ^B	0.390 ^A	0.026	0.0012
39,499	Octadecane	0.153 ^B	0.260 ^A	0.262 ^A	0.144 ^B	0.022	0.0001
39,655	Phytane	0.249 ^B	0.461 ^A	0.213 ^B	0.364 ^B	0.041	0.0001
39,865	Hexadecanal	0.493 ^B	1.659 ^A	0.512 ^B	0.576 ^B	0.104	0.0001
40,417	1 Phytene	0.160	0.319	0.306	0.307	0.047	NS
41,182	1-hexadecene	0.217 ^{BC}	0.385 ^A	0.146 ^C	0.331 ^{AB}	0.038	0.0001
41,605	2-heptadecanone	0.193	0.269	0.186	0.231	0.029	NS
42,136	δ-Decalactone	0.175	0.287	0.237	0.226	0.035	NS
43,002	hexadecanoic acid	0.471 ^{AB}	0.570 ^A	0.317 ^{BC}	0.219 ^C	0.044	0.0001

Tabella 3. Classi di composti aromatici in relazione al sistema alimentare

	C	Sansa	Lino	SL	SEM	P
Aldeidi totali	67.158 ^A	62.846 ^B	67.425 ^A	60.505 ^B	0.680	0.0001
Chetoni totali	6.072	6.809	6.688	6.432	0.291	NS
Esteri totali	1.575	1.723	1.845	1.826	0.105	NS
Alcoli totali	9.651 ^B	10.919 ^A	7.943 ^C	8.473 ^{BC}	0.333	0.0001
Furani totali	4.459 ^C	5.373 ^{BC}	6.242 ^B	9.856 ^A	0.301	0.0001
Acidi totali	1.959 ^A	1.614 ^B	1.129 ^C	0.949 ^B	0.083	0.0001
Terpeni totali	0.626 ^B	1.029 ^A	0.683 ^B	0.881 ^{AB}	0.082	0.0034
Idrocarburi totali	5.841 ^B	7.382 ^A	6.095 ^{AB}	6.885 ^A	0.236	0.0001
Lattoni	0.175	0.287	0.237	0.226	0.035	NS
Pirroli	2.480 ^B	2.013 ^{BC}	1.707 ^C	3.963 ^A	0.171	0.0001

Tabella 4. Composizione in acidi grassi della dieta (%)

	Composizione in acidi grassi della dieta (%)			
	Controllo	Sansa	Lino	Sansa+Lino
C18:1 n-9	25,96	59,87	13,82	39,57
C18:2 n-6	45,08	19,23	24,98	21,62
C18:3 n-3	1,76	1,99	45,96	19,91
Saturi	24,6	15,95	12,65	16,31
Monoinsaturi	26,1	60,08	13,93	39,67
Polinsaturi	46,84	21,22	70,94	41,53
n-3	1,76	1,99	45,96	19,91
n-6	45,08	19,23	24,98	21,62

I primi risultati di questo progetto sono stati pubblicati quest'anno sulla rivista scientifica internazionale “Animals” (ISSN 2076-2615) peer-reviewed, open access, edita da MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute).

Si riporta di seguito l’articolo scientifico dal titolo: “*The Effects of Olive Cake and Linseed Dietary Supplementation on the Performance, Carcass Traits, and Oxidative Stability of Beef from Young Podolian Bulls*”, pubblicato il 25 luglio 2025 sulla rivista “Animals”. L’articolo è visionabile e scaricabile gratuitamente.

Si segnala, inoltre, che è di prossima pubblicazione un secondo articolo sulla rivista scientifica internazionale “Meat Science” (ISSN 0309-1740) peer-reviewed, edita da Elsevier BV.

Article

The Effects of Olive Cake and Linseed Dietary Supplementation on the Performance, Carcass Traits, and Oxidative Stability of Beef from Young Podolian Bulls

Paolo De Caria ¹, Luigi Chies ¹, Giulia Francesca Cifuni ², Manuel Scerra ¹, Francesco Foti ¹, Caterina Cilione ¹, Paolo Fortugno ¹, Miriam Arianna Boninsegna ¹, Corinne Giacondino ¹, Salvatore Claps ² and Pasquale Caparra ^{1,*}

¹ Department of Agriculture, Mediterranean University of Reggio Calabria, Via dell'Università, 25, 89124 Reggio Calabria, Italy; paolo.decaria@unirc.it (P.D.C.); lchies@unirc.it (L.C.); manuel.scerra@unirc.it (M.S.); francesco.foti@unirc.it (F.F.); caterina.cilione@unirc.it (C.C.); frtpla99s23h224h@studenti.unirc.it (P.F.); miriam.boninsegna@unirc.it (M.A.B.); corinne.giacondino@unirc.it (C.G.)

² Council for Agricultural Research and Economics-Research Centre for Animal Production and Aquaculture, S.S.7 Via Appia, 85051 Bella Muro, Italy; giuliafrancesca.cifuni@crea.gov.it (G.F.C.); salvatore.claps@crea.gov.it (S.C.)

* Correspondence: pasquale.caparra@unirc.it

Simple Summary

This study investigated the effects of dietary supplementation with stoned olive cake and extruded linseed on growth performance and meat quality in thirty-six Podolian bulls. Animals were randomly allocated to four dietary groups: a control (CON), an olive cake group (OC, 30% as-fed), a linseed group (EL, 15% as-fed), and a combined olive cake–linseed group (OCEL, 20% olive cake + 10% linseed as-fed). Productive parameters, including final body weight, dry matter intake, feed conversion ratio, average daily gain, carcass weight, and dressing percentage were unaffected by dietary treatments ($p > 0.05$). In contrast, meat from bulls receiving olive cake—alone or in combination—exhibited significantly improved oxidative stability and colorimetric parameters, as indicated by lower TBARS values and enhanced color ($p < 0.001$). These findings suggest that the inclusion of olive cake and linseed in the finishing diets of Podolian cattle may improve meat quality attributes without compromising animal performance. Moreover, the valorization of olive industry by-products through animal nutrition supports sustainability goals and the principles of the circular economy, particularly within Mediterranean production systems.



Academic Editor: Alma D. Alarcon-Rojo

Received: 30 June 2025

Revised: 20 July 2025

Accepted: 23 July 2025

Published: 25 July 2025

Citation: De Caria, P.; Chies, L.; Cifuni, G.F.; Scerra, M.; Foti, F.; Cilione, C.; Fortugno, P.; Boninsegna, M.A.; Giacondino, C.; Claps, S.; et al. The Effects of Olive Cake and Linseed Dietary Supplementation on the Performance, Carcass Traits, and Oxidative Stability of Beef from Young Podolian Bulls. *Animals* **2025**, *15*, 2188. <https://doi.org/10.3390/ani15152188>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract

To evaluate animal performance and meat quality, stoned olive cake and linseed were used in an experimental test conducted on thirty-six young Podolian bulls, divided into four groups: the control group (CON), OC group (with olive cake containing a 30% as-fed basis of stoned olive cake), EL group (with linseed containing a 15% as-fed basis of extruded linseed), and OCEL group (with olive cake + linseed containing 20% stoned olive cake and 10% extruded linseed). The results show that olive cake supplementation did not influence performance in vita or the post-slaughter animal measurements (final body weight, DMI, FCR, ADG, carcass weight, dressing percentage, and pH) ($p > 0.05$); this was not true of the TBARS and color measurements, for which the meat samples showed excellent values ($p < 0.001$), especially in diets supplemented with olive cake. In conclusion, incorporating olive cake and linseed into the diet of fattening cattle may be a way to utilize a by-product of the olive industry and naturally increase the nutritional value of meat and

meat-based products in Mediterranean regions. This would reduce environmental impacts and promote the valorization of this local feed source in alignment with the principles of the circular economy.

Keywords: shelf life; bull meat; olive pomace; flaxseed meal; local breeds; growth performance; slaughter performance; olive polyphenol

1. Introduction

It is paramount that alternate solutions are discovered for the disposal of by-products derived from the agri-food sector, given the increasing global population and the consequent need for a prudent food and water resource use.

With ambitious plans being implemented for a circular economy plan in recent years, international politics has begun shifting toward a more sustainable economy with the goal of minimizing waste and reusing by-products. Reintroducing waste into the production cycle is the main goal, as this allows for fresh resources to be obtained that can be utilized to create new goods and provide economic value [1].

Additionally, waste management is a crucial component of plans to lower greenhouse gas emissions, air and water pollution, and health issues.

Global warming is regarded as having a number of primary causes, including the cattle industry.

The main global sources of GHG emissions in the production of feed are land use, transport, and cultivation and processing.

In this case, incorporating agro-industrial waste products into animal feed might be a key element of a global effort to lessen the environmental effects of both livestock production and agro-industrial activities.

Some of these by-products are abundant in bioactive chemicals and may serve as an excellent supply of fresh goods, with applications in the circular economy and sustainability efforts [2]. The objective of a Zero Waste Economy is to reincorporate waste into the production cycle to be used as a new resource [3].

By-products from the agri-food business may be reused by turning them into zootechnical feed, which has economic benefits and a positive socio-environmental effect [4].

Since some by-products contain bioactive compounds, such as vitamins, minerals, phenolic compounds, and unsaturated fatty acids, using agro-industrial by-products in livestock can improve product quality and shelf stability, in addition to lowering the carbon footprint of animal products and the environmental problems caused by by-product accumulation [4–6].

There are key areas of the feed sector in which technological innovation is advantageously used for the reuse of by-products and agri-food residues, such as the enhancement of nutritional and functional qualities in food. Certain agro-industrial by-products are rich in bioactive compounds with demonstrated functional properties, including antioxidant, immunomodulatory, and metabolic effects. Beyond their nutritional contribution, these materials can be strategically incorporated into animal diets to improve both animal health and the quality of derived products. The inclusion of agro-industrial by-products in animal diets has been reported to improve the fatty acid profile, oxidative stability, and shelf life of meat, without affecting animal performance [7,8]. The livestock sector may benefit economically and ecologically from the use of agro-industrial by-products in animal feed, which will increase its sustainability and profitability. One of the most significant agro-industrial by-products in the Mediterranean region, and a significant pollutant from

the manufacturing of olive oil, is olive cake (OC). In particular, recent studies have explored the recovery of bioactive phenolic compounds from olive oil by-products and their application in animal feeding strategies, with promising results in terms of sustainability and functional benefits [9]. Interest in OC research has grown as more has been revealed about the environmental issues associated with OC management and the commercial value of components such as phenols [10].

One of the potential final applications of this research is in animal feed, which would support the circular economy of Mediterranean nations.

The type of olive, the quantity of its components (skin, pulp, and stone), and the method used to extract the oil all have an impact on the chemical characteristics of olive cake [11]. Olive cake, beyond being a source of bioactive polyphenolic compounds, represents a high-energy feed ingredient owing to its notable content of residual oil, particularly rich in oleic acid. Pigs [12–14], cattle [15], small ruminants [16,17], broilers [18], and rabbits [19] have all been demonstrated to have positive responses to its use. The addition of olive cake to the diet of pigs may promote better growth, decrease the thickness of carcass fat, or give ruminants more energy [20,21].

Therefore, in order to reduce feeding costs while concurrently introducing a dietary source of oleic acid and bioactive compounds with antioxidant properties that may contribute to improved meat quality, stoned olive cake could be used as a partial substitute for conventional feed ingredients such as cereal grains.

Based on these considerations, linseed (*Linum usitatissimum*) was included in the present study alongside stoned olive cake, with the aim of further enhancing the nutritional and functional properties of the diet. Animal feed linseed has a high oil content (40%), with an α -linolenic acid content of approximately 55% with a 55% α -linolenic acid (ALA, 18:3n–3) ratio [22]. When linseed is added to ruminant diets, the amount of polyunsaturated fatty acids in animal products increases, particularly that of omega-3 PUFAs [23]. A range of FAs can be found in ruminant products. Some of them, such as omega-3 polyunsaturated fatty acids, may have positive effects on human health. Both 18:3 n-3 and omega-3 fatty acids with 20 and 22 carbons make up the omega-3 fatty acids that are found in beef. According to Mills et al. [24], omega-3 fatty acids, especially those with 20 and 22 carbons, may lower the risk of cardiovascular disease.

Today, consumers are more interested in natural preservatives than ever before, given their desire for products that are good for their health. Hence, supplying meals with a high nutritional value entails not only substituting natural antioxidants for synthetic preservatives, but also enhancing the health benefits and shelf life of the product.

The present study aimed to assess the effect of stoned olive cake supplementation, alone or in combination with extruded linseed, on the growth performance, carcass traits, and oxidative stability of beef from young Podolian bulls.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical Statement

The experimental procedures in this experiment were evaluated and approved by the Animal Welfare Committee of the Mediterranean University of Reggio Calabria (Protocol Number 3015/2023) and carried out according to international guidelines on the protection of animals used for scientific research (Directive 2010/63/EU).

2.2. Animal Management, Dietary Treatments, and Sample Collection

The experiment was conducted from February to July 2023 on a family farm (project leader) located in Melissa (province of Crotone, Calabria region, Southern Italy) at 80 m

above sea level (latitude: 39°17'46.712" N, longitude: 17°1'34.651" W), which breeds Podolian cattle for meat production.

Podolian is an autochthonous cattle breed from southern Italy; it is especially found in the regions of Calabria and Basilicata, and is particularly rustic, long-lived, and well-adapted to live in difficult environments with poor-quality vegetation (native pastures and shrubs). It is farmed with extensive or semi-extensive systems, still using the traditional practice of transhumance, which consists of the seasonal migration of livestock who move along the ancient pathways from the mountainous areas to those of the plains during the winter season, or conversely during the summer season, in order to find more suitable pastures.

Podolian cattle breeding is characterized by a cow–calf line in which calves are raised on natural pasture with their mothers and naturally weaned when they are about 7 to 8 months old. After weaning, they continue to be kept on pasture until 10–11 months of age and are then moved to housing systems made up of open barns with pens to be finished with concentrates and straw until slaughter at 15–16 or 17–18 months of age.

The experiment involved 36 young Podolian bulls that were randomly allotted to four equal groups of 9 animals each, in accordance with dietary treatments and balanced to their age (average initial age of 315.73 ± 19.40 days; mean $\pm$ SD) and body weight (average initial body weight of 304.31 ± 13.50 kg; mean $\pm$ SD).

The Podolian calves for each treatment were housed within the same newly constructed free-stall barn in separate contiguous pens with a feeding/resting area and an uncovered exercise area with a total space allowance of 14.5 m² per head. Each pen was equipped with individual cribs and mangers with approximately 0.80 m feeding space per animal.

The animals in each group were fed the same basal forage consisting of wheat straw offered *ad libitum* once daily at 7.30 a.m., and one of the following pelleted experimental concentrates: (i) a concentrate without olive cake and extruded linseed supplementation (concentrate CTRL); (ii) a concentrate containing a 30% as-fed basis of stoned olive cake without extruded linseed supplementation (concentrate OC); (iii) a concentrate containing a 15% as-fed basis of extruded linseed without stoned olive cake supplementation (concentrate EL); and (iv) a concentrate containing 20% stoned olive cake and 10% extruded linseed (as-fed basis) supplementation (concentrate OCEL) (Table 1).

The experimental concentrates were given to each animal twice a day at 8.00 a.m. and 4:00 p.m., at a rate of 1.7 kg (as-fed basis) per 100 kg of live weight, and were consumed in their entirety by all of the animals. The concentrate offering was adjusted every two weeks according to the most recent body weight measurement. The amounts of wheat straw offered to and refused by each bull were weighed and recorded weekly. Water was given *ad libitum* for all treatments. The concentrates used in the experiment were formulated to be isonitrogenous and isoenergetic. The fattening period lasted for 170 days, including 20 days for the adaptation period and 150 days for the experimental period. Throughout the entire experimental period, the general health conditions of the animals remained optimal, and there was no onset of alterations of any kind, mainly with regard to the digestive system. The olive cake used in the experiment was provided by an olive farm with organic certification (project partner) located in Belcastro (province of Catanzaro, Calabria, southern Italy), which grows and processes olives into organic higher-quality extra virgin oil, and consequently also produces organic olive cake. In our study, we chose to use organic olive cake, free of synthetic chemical residues, so as not to compromise the extremely positive image of the extensive Podolian farming system, which uses environmentally and animal-friendly farming methods that supply high-quality products, and which is greatly appreciated by consumers.

Table 1. Ingredients and formulation of the experimental concentrates administered to the young Podolian bulls.

	Concentrates			
	CON	OC	EL	OCEL
Ingredient, % as-fed basis				
Corn meal	23.50	15.60	20.40	15.00
Barley meal	21.52	12.30	19.92	10.32
Wheat middlings	18.00	6.10	12.00	13.00
Broad bean (<i>Vicia faba minor</i>)	15.00	15.00	15.00	13.00
Soybean extraction meal, 46% ³	13.80	13.12	9.00	10.00
Extruded whole linseed	0.00	0.00	15.00	10.00
Stoned olive cake	0.00	30.00	0.00	20.00
Sugar beet pulp	4.50	4.20	5.00	5.00
Calcium carbonate	1.30	1.30	1.30	1.30
Sugar cane molasses	1.00	1.00	1.00	1.00
Lignosulfite	0.50	0.50	0.50	0.50
Sodium bicarbonate	0.40	0.40	0.40	0.40
Sodium chloride	0.10	0.10	0.10	0.10
Magnesium oxide	0.30	0.30	0.30	0.30
Mineral premix ¹	0.05	0.05	0.05	0.05
Vitamin premix ²	0.03	0.03	0.03	0.03

¹ Mineral premix contained per kilogram: Cu (copper sulfate pentahydrate), 12 mg; I (calcium iodate), 0.75 mg; Mn (manganese oxide), 45 mg; Se (sodium selenite), 0.20 mg; Zn (zinc oxide), 65 mg; Zn (zinc sulfate monohydrate), 10 mg. ² Vitamin premix contained per kilogram: vitamin A (retinyl acetate), 6000 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 900 IU; niacin (nicotinic acid), 77.40 mg; vitamin B1 (thiamine monohydrate), 0.87 mg; vitamin B2 (riboflavin), 1.92 mg; vitamin E (DL- α -tocopherol acetate), 15 mg. ³ Total of 46% crude protein in the dry matter.

The olive cake was obtained from a continuous two-and-a-half-phase olive oil mill plant (Pieralisi Group S.p.A., Jesi, Italy) by means of “cold extraction” (during the oil-making process, the temperature never exceeds 27 °C) according to the following operative conditions: olive crushing was carried out with a hammer crusher equipped with an inverter for the adjustment of its rotating speed, which, due to its particular construction characteristics, is able to reduce the thermal and oxidative stress on the product; olive paste malaxation (kneading) lasted about 45 min at 24–26 °C; and oil extraction was performed using a centrifugal extractor (two-and-a-half-phase decanter) Scorpion 5.9 model (Pieralisi Group S.p.A., Jesi, Italy), which allows for significantly reducing water consumption compared with conventional processes, while ensuring a higher concentration of polyphenols in both the oil and the olive cake. With this technology, the moisture content of the olive cake obtained was roughly 50%.

In order to avoid high losses of phytochemicals, antioxidants, and other bio-active compounds, in this experiment, we chose to dry the wet olive cake at room temperature using a green, simple, low-cost method developed by a small local company (project partner) located in Belcastro (province of Catanzaro, Calabria, southern Italy), with our support. In detail, after olive oil extraction, the fresh virgin olive cake was quickly transported from the oil mill to the naturally ventilated greenhouses, covered with UV-stabilized polyethylene, to dry. In these polyhouses, the olive cake was spread on the concrete floor in layers of about 10–12 cm and periodically mixed mechanically to speed up the drying process. The drying took place through natural air convection without using any additional systems. The drying process took 8–10 days, depending on the initial humidity of the olive cake. Once drying was completed, the olive cake was stoned, using a vibration sieve with a mesh size of 2 mm, and immediately pelleted and packaged by the local industry partner to ensure the highest quality, and it was subsequently sent to a feed mill for the production of pelleted experimental concentrates (Table 1).

After drying and pitting, several representative samples of the olive cake were collected and brought to the laboratory to detect the presence of mycotoxins and other potential contaminants.

The total amounts of feed consumed (concentrate and straw) by each animal were recorded and analyzed for dry matter (DM) content (in a forced air heater at 105 °C) to assess the dry matter intake (DMI). During the experimental period, the bulls were individually weighed every two weeks with a cattle scale to adjust the concentrate offering and to determine the average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR) values.

Representative samples of the concentrates, wheat straw, and used dried stoned olive cake were collected during the course of the experiment to be submitted to the laboratory for analysis.

2.3. Slaughter Procedures, Carcass Characteristics, and Meat Sampling

All bulls were humanely slaughtered on the same day, in a commercial slaughterhouse after a 60 km truck journey, after one night of fasting, but with access to water. All animals were slaughtered by means of throat cutting after captive bolt stunning. The slaughter procedures used comply with welfare regulations and the EU Council Regulation (EC) No 1099/2009 (EC, 2009) [25].

After slaughtering, the carcasses were weighed to obtain hot carcass weight and hot dressing (calculated as the relation between hot carcass weight and slaughter body weight). The carcasses were then halved and subjectively assessed for conformation and fatness in accordance with the European Union beef carcass classification system under Council Regulation EU No. 1308/2013 [26]. Each score was then further classified as high (+), medium (=), and low (−). Both the conformation and fatness scales ranged from 18 (S+, very good) to 1 (P−, very poor) and 15 (5+, very high) to 1 (1−, extremely low), respectively. Once the surveys were completed, the carcasses were stored in a refrigeration room at 2 ± 2 °C, following the routine refrigeration procedure used in the slaughterhouse. After refrigeration for 24 h, the carcasses were weighed again and the cold dressing percentage and cooling loss were calculated. Subsequently, around the 9th rib of the right carcass, the subcutaneous fat color was measured in triplicate as the CIELAB coordinates L^* , a^* , and b^* according to the CIE system, using a portable colorimeter (Minolta CR300, Model CR-300, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan), illuminant D65, calibrated to a standard white tile.

Carcass pH was measured at 1 and 24 h postmortem using a portable pH-meter (HI 99163, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA) equipped with a penetrating electrode and inserted approximately three cm into longissimus thoracis muscle between the 7th and 8th thoracic vertebrae. The electrode was calibrated to 14 °C (abattoir temperature) with two buffers (pH 7.0 and pH 4.0).

After pH testing following 48 h of refrigeration, the part of the LD (Longissimus Dorsi), in a cranial–caudal direction, between the 6th and 10th thoracic vertebra, was taken from each right carcass for the analysis of lipid oxidation (TBARSs) and color.

2.4. Feed and Analysis Meat Proximate Analysis

Crude protein, crude fat, and crude ash were measured in feed samples using 1995 AOAC procedures 984.13, 920.39, and 942.05, respectively [27]. Analysis of the fiber fractions (NDF, ADF, and ADL) was conducted using the Van Soest, Robertson, and Lewis (1991) approach [28]. The method developed by Gray et al. [29] was used to determine lipids for the examination of fatty acids.

The total content of phenolic compounds was determined using the Folin–Ciocalteu reagent according to the colorimetric method described by Verma et al. [30] and Naczki and

Shahidi [31]. The extraction and quantification of tocopherols was evaluated according to Rachieru et al. [32].

The color in the meat samples was measured in triplicate as the CIELAB coordinates L^* , a^* , and b^* (CIE, 1986) using a portable colorimeter (Minolta CR300, Model CR-300, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan), illuminant D65, calibrated to a standard white tile.

Lastly, lipid oxidation in meat samples was assessed according to the method described by Siu and Draper [33].

2.5. Total Phenolic Content (TPC)

Phenolic compounds were recovered as described by Verma et al. [30] with some modifications.

Feed powder (moisture 9%) was mixed with hydroalcoholic solvent (EtOH 80%) (5:1 solvent/row material ratio). The extractions were performed on a heating plate (60 °C) with constant stirring for 60 min. Later, the produced extracts were centrifuged (10,000 rpm, 10 min, 4 °C) and the supernatant was recovered, filtered through a Buchner funnel, and stored at −21 °C until further analysis.

The total content of phenolic compounds was determined using the Folin–Ciocalteu reagent according to the colorimetric method described by Verma et al. [30] and Naczek and Shahidi (2006) [31], with appropriate modifications. Briefly, 0.5 mL of a diluted extract (1:10) was mixed with 2.5 mL of the Folin–Ciocalteu reagent (10% *v/v*) and 2 mL of a Na_2CO_3 solution (7.5% *w/v*). The mixture was incubated for 15 min at 45 °C and left to cool to room temperature for 30 min. Absorbance readings were taken at 765 nm against a reagent blank (reaction mixture without the sample), using a double-beam ultraviolet–visible spectrophotometer (Perkin-Elmer UV-Vis $\lambda 2$, Waltham, MA, USA).

Total phenolics content was calculated using a gallic acid calibration curve (2–10 mg/L; $r = 0.999$) and expressed as μg of gallic acid equivalents (GAEs) g^{-1} dry matter.

2.6. Extraction and Quantification of Tocopherols Using HPLC Analysis

Tocopherol content was evaluated according to Rachieru et al. [32], with appropriate modifications. In total, 2 g of dried and ground feed was saponified with an ethanolic solution (55% *v/v*) of potassium hydroxide (11% *w/v*) at 80 °C for 15 min. The samples were subsequently extracted with hexane. The hexane phase was recovered and concentrated using a Rotavapor. The residue obtained was dissolved in 200 μL of mobile phase.

Injection (20 μL), after filtration through cellulose syringe filters (0.45 μm), was performed using a Knauer HPLC Smartline Pump 1000 equipped with a Smartline 2600 UV detector (Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Germany) and a C18 reversed-phase column (250 $\times$ 4.6 mm $\times$ 5 μm). The mobile phase was 100% methanol with a flow rate of 1.5 mL/min and 40 °C temperature. Tocopherols were monitored at 292 nm, and external standards such as α -tocopherol and DL- α -tocopherol acetate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) were used for the quantification of tocopherols. The results are expressed as $\mu\text{g g}^{-1}$ of dry matter.

2.7. Lipid Oxidation of Meat Samples

The LD slices were covered with an oxygen-permeable film and stored in a refrigerator at 3 °C. Analyses were conducted on the fresh product at various storage intervals: at time zero (T0), and after three (T3), six (T6), and ten days (T10).

The analysis of thiobarbituric acid reactive substances (TBARSs), used as an index of lipid oxidation, was conducted on Longissimus Dorsi muscle samples, according to the method described by Siu and Draeper (1978) [33]. Five grams of sample material was homogenized with ultraturrax (2 min at 13,000 rpm) in 15 mL of 5% (*w/v*) trichloroacetic acid (TCA). After filtering the homogenate through filter paper (Whatman 42), a 4 mL

aliquot was taken, to which 1 mL of thiobarbituric acid (0.02 M) was added. Subsequently, after leaving the solution to incubate at 80 °C for 90 min, waiting for the development of the colorimetric reaction, the absorbance at 532 nm was measured using a double-beam spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Milan, Italy; model UV-1800). The data were expressed in mg of MDA/kg of meat.

2.8. Statistical Analysis

The performance parameters and fatty acid composition data were examined using an ANOVA model (SAS 2009, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), with dietary treatments used as a fixed factor. The means were compared using a Tukey test, with significance determined at $p < 0.05$.

The data on meat quality were assessed through a mixed model analysis (GLM procedure), which included the effects of the diets and storage time as fixed factors and their interactions. The least-square means (LSM) and the standard error of the least-square means (SEM) were calculated. Comparisons between the least-square means were performed using the Tukey test, and the differences were considered significant at $p < 0.05$.

3. Results

Samples of the olive cake were collected at the end of the drying process and tested to detect the presence of mycotoxins; the results indicate negligible levels of mycotoxin contamination (well below the maximum levels set by the European Commission: Commission Regulation (EU) 2023/915) [34] in all of the olive cake samples analyzed.

As can be seen in Table 2, the greatest quantity of alpha tocopherol was found in feed in which the olive cake was present (OC and OCEL).

Table 2. Chemical–nutritional composition and fatty acid profile of the experimental concentrates and of the straw administered to the young Podolian bulls.

	Straw	Concentrates ¹			
		CON	OC	EL	OCEL
Chemical composition					
Dry matter (DM), g/kg as feed	903.2	902.9	907.8	908.4	908.7
Crude protein, g/kg DM	40.3	198.5	198.5	198.5	199.0
Ether extract, g/kg DM	14.7	23.6	62.5	67.3	82.6
Ash, g/kg DM	67.4	52.7	58.2	51.9	56.8
NDF ² , g/kg DM	781.9	254.5	384.5	294.4	350.9
ADF ² , g/kg DM	501.5	75.5	207.2	94.5	158.8
ADL ² , g/kg DM	77.1	15.3	73.9	27.1	51.7
Net energy ³ , MFU ² /kg DM	0.30	1.04	0.97	1.06	1.00
Total phenolic compounds, Tae ⁴ /kg DM	1.18	6.14	15.05	7.67	14.44
Tocopherols					
Total tocopherols, µg/g DM		32.05	30.60	29.05	28.00
α-Tocopherol (%)		79.56	86.93	61.62	82.50
γ-Tocopherol (%)		18.41	11.44	37.18	16.07
δ-Tocopherol (%)		2.03	1.63	1.20	1.43
Fatty acids, % of total fatty acids					
C12:0	0.01	0.02	0.03	0.22	0.05
C14:0	2.69	1.08	1.05	1.06	1.01
C16:0	52.44	21.44	12.79	9.28	12.45
C16:1 c	0.14	0.14	0.21	0.11	0.1
C18:0	9.47	1.87	1.92	1.77	2.68
C18:1 n-9	8.44	25.96	59.87	13.82	39.57

Table 2. Cont.

	Straw	Concentrates ¹			
		CON	OC	EL	OCEL
C18:2 n-6	16.76	45.08	19.23	24.98	21.62
C18:3 n-3	4.85	1.76	1.99	45.96	19.91
C20:0	0.43	0.19	0.16	0.32	0.12
Others fatty acids	4.77	2.46	2.75	2.48	2.49
Fatty acid classes					
SFA ²	65.04	24.6	15.95	12.65	16.31
MUFA ²	8.58	26.1	60.08	13.93	39.67
PUFA ²	21.61	46.84	21.22	70.94	41.53
n-3 PUFA ²	4.85	1.76	1.99	45.96	19.91
n-6 PUFA ²	16.76	45.08	19.23	24.98	21.62
Fatty acid ratio					
UFA/SFA ²	0.46	2.97	5.10	6.71	4.98

¹ CON = containing neither linseed nor olive cake; OC = containing 30% stoned olive cake; EL = containing 15% extruded whole linseed; OCEL = containing 10% of extruded whole linseed and 20% of stoned olive cake.

² Abbreviations: NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; ADL, acid detergent lignin; MFU, meat forage units; SFAs, saturated fatty acids; UFAs, unsaturated fatty acids; MUFAs, monounsaturated fatty acids; PUFAs, polyunsaturated fatty acids; USFA/SFA, unsaturated fatty acid/saturated fatty acid ratio. ³ The calculations of energy values, expressed in UFC, were performed using the approach and the equations proposed by INRA (Alimentation des Ruminants; Editions Quae: Versailles, France, 2018). ⁴ Tannic acid equivalent.

As expected, oleic acid (C18:1 n-9 acid) and α -linolenic acid (C18:3 n-3) were present in higher quantities in diets containing olive cake and linseed. As shown in Table 3, the dietary treatments had no influence on the carcass weight, dressing percentage, pH, average daily gain (ADG), dry matter intake (DMI), feed conversion ratio (FCR), and final body weight.

Table 3. Performance in vita and post-slaughter measurements of young Podolian bulls receiving four different supplementations during the fattening period.

Items	Treatments ¹				SEM ²	Significance
	CON	OC	EL	OCEL		
No. of bulls	9	9	9	9		
Start age (days)	314.50	315.63	316.75	316.03	7.66	NS
Initial weight (kg)	303.50	304.00	305.25	304.50	5.33	NS
Final weight (kg)	498.30	493.10	492.00	495.50	12.10	NS
ADG (kg/day)	1.30	1.26	1.25	1.27	0.04	NS
Hot carcass weight (kg)	264.38	260.06	260.56	263.25	10.58	NS
Cold carcass weight (kg)	259.50	255.25	255.56	258.31	10.43	NS
Hot dressing percentage (%)	52.95	52.70	52.87	53.09	0.55	NS
Cold dressing percentage (%)	51.96	51.73	51.85	52.10	0.54	NS
Cooling loss (%)	1.86	1.85	1.93	1.88	0.04	NS
Carcass conformation score ³	8.00	7.88	8.00	8.00	0.62	NS
	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	
Carcass fatness score ⁴	6.00	6.22	6.22	6.00	0.54	NS
pH after 1 h <i>post mortem</i>	6.71	6.66	6.67	6.62	0.08	NS
pH after 24 h <i>post mortem</i>	5.40	5.52	5.44	5.50	0.06	NS
Dry matter intake (kg/day)	8.70	8.54	8.63	8.43	0.23	NS
Feed conversion ratio (kg DM/kg gain)	6.85	7.01	7.03	6.74	0.32	NS
Feed conversion ratio (% final weight)	1.75	1.74	1.71	1.71	0.10	NS

¹ CON = containing neither linseed nor olive cake; OC = containing 30% of stoned olive cake; EL = containing 15% of extruded whole linseed; OCEL = containing 10% of extruded whole linseed and 20% of stoned olive cake. ² Standard error of the means (SEM). ³ According to EUROP classification, where 15 = E+ very excellent, 1 = P− very poor. ⁴ According to fatness scale, where 15 = 5+ very high, 1 = 1− very low.

These data suggest that the partial replacement of conventional feed with olive cake does not significantly compromise animal growth, thus proving to be a sustainable option.

Regarding oxidative stability, Figure 1 illustrates the TBARSs (thiobarbituric acid reactive substances) values measured throughout the monitoring period, serving as an indicator of lipid peroxidation in the meat samples.

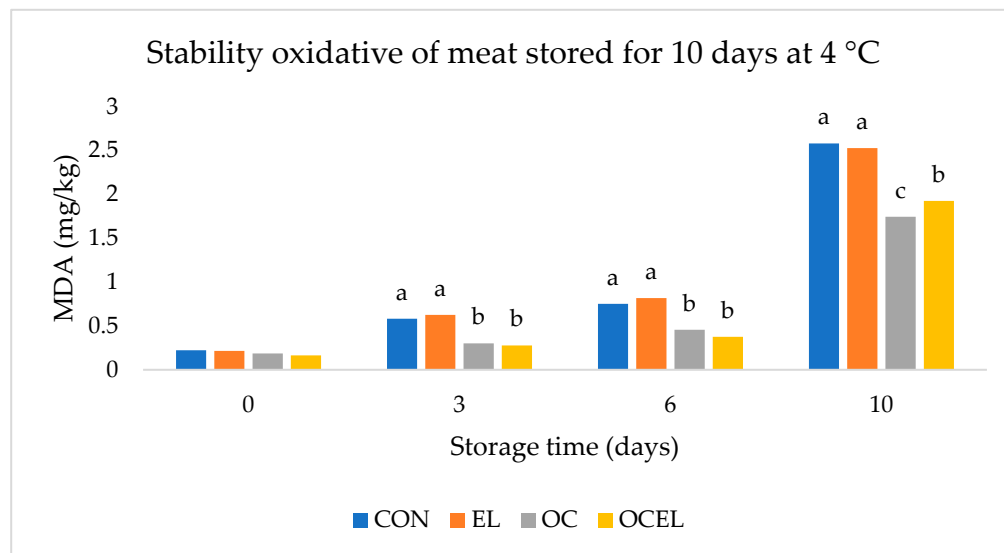


Figure 1. Effect of the dietary treatment and time of storage on the oxidative stability of Longissimus Dorsi. Treatments were CON = containing neither linseed nor olive cake; OC = containing 30% of stoned olive cake; EL = containing 15% of extruded whole linseed; OCEL = containing 10% of extruded whole linseed and 20% of stoned olive cake. Interactive effect of dietary treatment (CON, EL, OC and OCEL) and storage time on TBARS values measured on meat samples during aerobic storage at 4 °C. The values presented show highly significant differences ($p < 0.001$).

The control (CON) and linseed (EL) groups exhibited a marked increase in TBARS values over time, indicating a higher susceptibility to lipid oxidation. This suggests reduced oxidative stability in both groups, likely due to the absence of sufficient dietary antioxidants. In particular, despite the nutritional advantages associated with linseed, the EL group showed TBARS levels comparable to those of the control group, and was rich in alpha-linolenic acid, which may actually enhance the vulnerability of meat lipids to oxidative degradation, especially when not counterbalanced by effective antioxidant compounds.

In contrast, the OC (olive cake) and OCEL (olive cake + linseeds) groups, who were both supplemented with olive cake, displayed significantly lower TBARS values throughout the 10-day storage period. This finding reflects a pronounced antioxidative effect, which can be attributed to the natural polyphenolic compounds present in olive cake, which are known for their radical-scavenging and lipid-stabilizing properties. The ability of these compounds to delay lipid oxidation appears to compensate for the pro-oxidative nature of PUFAs when linseeds are included, as evidenced by the improved oxidative stability in the OCEL group compared with the EL group.

The color parameters monitored over the 16-day refrigerated storage period are presented in Table 4.

The dietary inclusion of olive cake (OC), linseed (EL), or their combination (OCEL) had a significant effect on the evolution of the meat color parameters during refrigerated storage, as assessed through instrumental colorimetric analysis (CIE Lab* system).

Table 4. Variation in lightness (L*), redness (a*), yellowness (b*), chrome (C*), and hue (H*) in meat during storage 4 °C for 10 days.

Parameter	Storage Time (Days)	Dietary Treatments				SEM	Significance		
		CON ¹	OC ¹	EL ¹	OCEL ¹		F ²	T ³	F × T
L*	0	39.733 ^{Ac}	41.683 ^b	42.755 ^a	41.819 ^{Bb}	0.264	0.0001	NS	0.0001
	3	39.775 ^{Ab}	42.429 ^a	42.819 ^a	42.537 ^{Ba}				
	6	39.255 ^{Ac}	41.765 ^b	42.585 ^a	42.678 ^{Aa}				
	10	38.588 ^{Bc}	42.109 ^b	43.096 ^a	43.194 ^{Aa}				
a*	0	17.491 ^A	18.193 ^A	17.894 ^A	18.189 ^A	0.311	0.0001	0.0001	0.0001
	3	13.547 ^{Bd}	16.229 ^{Bb}	14.467 ^{Bc}	17.289 ^{Ba}				
	6	10.999 ^{Cc}	14.552 ^{Ca}	12.333 ^{Cb}	14.967 ^{Ca}				
	10	6.458 ^{Db}	8.235 ^{Da}	6.127 ^{Db}	8.695 ^{Da}				
b*	0	11.069 ^{Ab}	13.405 ^{Aa}	12.92 ^{Aa}	13.49 ^{Aa}	0.232	0.0001	0.0001	0.0001
	3	9.210 ^{Bc}	12.958 ^{Aa}	10.003 ^{Bb}	13.040 ^{Aa}				
	6	8.425 ^{Cb}	11.699 ^{Ba}	8.164 ^{Cb}	12.202 ^{Ba}				
	10	8.208 ^{Cb}	9.520 ^{Ca}	7.740 ^{Cb}	9.741 ^{Ba}				
C*	0	20.701 ^{Ab}	22.601 ^{Aa}	22.085 ^{Aa}	22.649 ^{Aa}	0.365	0.0001	0.0001	0.0001
	3	16.384 ^{Bc}	20.773 ^{Ba}	17.595 ^{Bb}	21.656 ^{Ba}				
	6	13.855 ^{Cb}	18.763 ^{Ca}	14.794 ^{Cb}	19.313 ^{Ca}				
	10	10.452 ^{Db}	12.590 ^{Da}	9.883 ^{Db}	13.060 ^{Da}				
H*	0	32.305 ^{Db}	36.425 ^{Da}	35.963 ^{Ba}	36.594 ^{Ca}	0.495	0.0001	0.0001	0.0001
	3	34.185 ^{Cc}	36.629 ^{Cb}	34.557 ^{Cc}	37.058 ^{Ca}				
	6	37.450 ^{Bb}	38.777 ^{Bab}	33.384 ^{Cc}	39.167 ^{Ba}				
	10	51.954 ^{Aa}	49.165 ^{Ab}	51.703 ^{Aa}	48.235 ^{Ab}				

Different capital letters in the same column indicate significant differences $p < 0.0001$; Different lowercase letters in the same row indicate significant differences $p < 0.0001$. ¹ CON = containing neither linseed nor olive cake; OC = containing 30% of stoned olive cake; EL = containing 15% of extruded whole linseed; OCEL = containing 10% of extruded whole linseed and 20% of stoned olive cake. ² F = Feeding. ³ T = Time.

The lightness (L) of the meat was significantly influenced by dietary treatment ($p < 0.001$) and by the interaction between treatment and storage time ($p < 0.001$), whereas storage time alone had no significant effect ($p > 0.05$). At day 0 (T0), the control group (CON) showed the lowest L value, while higher values were observed in the OC, EL, and OCEL groups ($p < 0.001$). In particular, meat from the EL group displayed slightly higher L* values compared to the other groups at T0. At day 3 of refrigerated storage, the L* values remained significantly higher in the OC, EL, and OCEL groups compared to CON ($p < 0.001$). By day 6, a further decrease in lightness was observed in the CON group, while the supplemented groups maintained elevated values ($p < 0.001$). At day 10, CON still exhibited the lowest L* value, whereas the EL and OCEL groups recorded the highest lightness, followed by OC ($p < 0.001$).

The redness (a*) parameter remained consistently higher in the OC and OCEL groups compared with CON and EL across all the storage times ($p < 0.001$).

The yellowness (b*) value at day 0 was lower in CON compared with the supplemented groups (OC, EL, OCEL), with statistically significant differences ($p < 0.001$). Until time point T10, the b values remained higher in the OC and OCEL groups compared to the CON and EL groups ($p < 0.001$).

The chroma (C*), which reflects color saturation, was significantly influenced by treatment ($p < 0.001$) and its interaction with time ($p < 0.001$), while time alone did not have a significant effect ($p > 0.05$). At day 0, the CON group presented the lowest chroma value. From day 3 onwards, the chroma values in the CON and EL groups dropped below 18,

whereas in OC and OCEL, they remained above this threshold through to day 10, indicating enhanced color intensity stability in the latter groups.

The hue angle (h^*) increased during storage in all the groups. This parameter was significantly affected by treatment ($p < 0.001$), and its interaction with time ($p < 0.001$). At day 0, the OC and OCEL groups exhibited higher hue values than CON and EL, indicating a redder hue at baseline. At day 3, the highest values were recorded in the OCEL group, followed by slightly lower values in the OC group, and subsequently in the EL and CON groups ($p < 0.001$). At day 6, OCEL maintained the highest values, followed by the CON group, while the OC group showed values comparable to CON, and the lowest values were observed in the EL group ($p < 0.001$). At day 10, the highest values were recorded in the CON and EL groups, while the OC and OCEL groups showed slightly lower values.

4. Discussion

This study aimed to evaluate the effects of dietary supplementation with olive cake and linseed on the growth performance, carcass characteristics, and oxidative stability of meat in young Podolian bulls. This rustic and autochthonous breed, well adapted to marginal environments, has been scarcely explored in the context of advanced feeding strategies designed to improve both product quality and sustainability [21]. The present findings offer robust evidence supporting the inclusion of both olive cake and linseed as functional feed ingredients. These components demonstrated the capacity to enhance meat oxidative stability without impairing growth performance or carcass yield, thereby supporting their applicability in livestock systems aimed at improving resilience and energy efficiency.

Growth performance indicators—including average daily gain (ADG), final body weight, dry matter intake (DMI), and feed conversion ratio (FCR)—were not significantly influenced by dietary treatment, as demonstrated by the results in Table 3. Similarly, carcass weight and dressing percentage remained unaffected across the groups. These outcomes hold considerable relevance within sustainable livestock production models, where agro-industrial by-products are increasingly proposed as alternative feed resources to mitigate environmental impact and reduce reliance on conventional feed ingredients [35]. The absence of negative effects on animal performance confirms the suitability of both olive cake and linseed as dietary components that do not compromise either productivity or carcass quality. Importantly, the observed improvements in oxidative stability were achieved without any detriment to performance, thus meeting the dual aim of enhancing meat quality while maintaining efficiency in production.

From a qualitative perspective, this study confirmed the hypothesis that the antioxidant properties of olive cake significantly contribute to the stabilization of meat during refrigerated storage, particularly with regard to oxidative stability and color preservation. These effects are primarily attributed to the presence of bioactive compounds such as hydroxytyrosol, tyrosol, and oleuropein, which exert potent radical-scavenging and metal-chelating effects, along with naturally occurring tocopherols [36,37]. Prior research has identified the antioxidant roles of these phenolics and vitamins, which act synergistically to inhibit lipid oxidation and preserve myoglobin in its reduced forms. Supporting this mechanism, the tocopherol analysis revealed significantly elevated α -tocopherol concentrations in the groups supplemented with olive cake (OC and OCEL), as reported in Table 2, confirming the enhanced antioxidant profile of the resulting meat.

Oxidative stability and meat color are key determinants of product shelf life, marketability, and consumer preference. The visual appeal of meat, particularly its color, serves as a primary indicator of freshness, with bright cherry-red hues indicating optimal quality [38]. This attribute is closely linked to the redox state of myoglobin, which oscillates between deoxymyoglobin (purple), oxymyoglobin (bright red), and metmyoglobin (brown),

as extensively described in [39]. The oxidation of oxymyoglobin to metmyoglobin results in discoloration and a corresponding reduction in commercial value [40–42]. Moreover, this oxidative conversion is often accelerated by the presence of reactive oxygen species (ROS), which are generated during lipid peroxidation [43].

A quantitative analysis of lipid oxidation, using thiobarbituric acid reactive substances (TBARSs), revealed that the OC and OCEL groups exhibited markedly lower values than both the control (CON) and the linseed-only (EL) groups, with highly significant differences ($p < 0.001$). These reduced TBARS levels, illustrated in Figure 1, were maintained over the 10-day refrigerated storage period, underscoring the antioxidant efficacy of olive cake. These findings align with previous studies highlighting the benefits of olive by-products in improving oxidative stability in lambs, pigs, and poultry [44], while also expanding the knowledge base regarding their effects in the underrepresented Podolian breed.

Although linseed is a well-established source of α -linolenic acid (C18:3 n-3), which enhances the n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of meat and, thus, its nutritional profile, its high degree of unsaturation increases susceptibility to oxidation [45]. Without adequate antioxidant protection, PUFAs may accelerate lipid peroxidation, thereby compromising meat's quality, both nutritionally and organoleptically. In agreement with this, the EL group exhibited higher TBARS levels compared with the OC and OCEL groups, reinforcing the necessity of combining PUFA sources with effective antioxidants such as those found in olive cake [46].

Colorimetric assessments supported the biochemical data. Lightness (L^*) and redness (a^*) values were significantly higher in the OC and OCEL groups compared to the control from day 0 and remained stable throughout storage, indicating enhanced color stability and reduced myoglobin oxidation. The EL group showed the highest L^* values initially and maintained a consistently lighter meat color over time [47]. As detailed in Table 4, the observed enhancements in colorimetric parameters are particularly relevant in terms of consumer appeal, given that meat color is one of the most influential extrinsic factors affecting purchasing decisions. Specifically, cuts exhibiting higher lightness (L^*) and redness (a^*) values are consistently perceived as fresher and of higher quality, and are therefore preferred over darker or less vivid counterparts [48]. The sustained redness in the olive cake-supplemented groups likely reflects the protective role of dietary phenolics in preserving oxymyoglobin [49,50]. Chroma (C^*), indicative of color saturation, remained above the consumer acceptability threshold of 18 until day 6 in the OC and OCEL groups, whereas this threshold was breached as early as day 3 in the CON and EL groups [51]. Hue angle (h°), which reflects the transition from red to brown hues, increased across all groups during storage, but did so more gradually in the olive cake-supplemented groups, further confirming their superior oxidative protection.

A safety evaluation of the olive cake used in this study demonstrated an absence of mycotoxins [34], validating its use as a safe and sustainable feed component. These findings are consistent with a growing body of evidence supporting the role of dietary polyphenols and natural antioxidants in improving meat stability and overall quality [52–54].

5. Conclusions

This study provides strong evidence that the dietary inclusion of stoned olive cake (OC) in the feeding regimen of young Podolian bulls effectively improves meat oxidative stability and color retention, without impairing productive performance. Indeed, the combination of stoned olive cake (OC) and linseed (EL) had no negative impact on growth performance, as key parameters, such as final body weight, average daily gain, dry matter intake, and feed conversion ratio, remained unaffected. These results confirm the feasibility of both OC and EL as functional and sustainable components in ruminant feeding strategies.

A key factor contributing to the successful outcomes observed in this study was the drying method used for the olive cake, which was carried out at ambient temperature. This gentle drying process was fundamental in preserving the bioactive compounds within the olive cake, ensuring their efficacy in improving meat quality and oxidative stability. The choice of ambient temperature drying, therefore represents an important methodological advancement for the practical use of olive cake in animal nutrition. Moreover, this system could be further optimized by adopting a greenhouse with forced ventilation powered by photovoltaic panels and incorporating floor heating through solar thermal systems, enhancing drying efficiency while maintaining sustainability and reducing energy costs.

Consequently, in diets supplemented with olive cake (OC and OCEL), the enhanced oxidative stability observed in the meat can be directly attributed to the preserved bioactive phenolic compounds, particularly hydroxytyrosol and oleuropein. These compounds effectively inhibited lipid peroxidation during meat storage and helped maintain color stability, thus enhancing meat quality traits that are essential for consumer acceptance and commercial value. In addition to its nutritional benefits, OC represents a promising model of the circular economy by valorizing olive oil industry by-products and reducing agricultural waste. However, due to the potential antinutritional effects of excessive polyphenol intake, its inclusion in ruminant diets should be carefully balanced and continuously monitored to avoid adverse effects.

Notably, the group fed exclusively with linseed (EL) exhibited higher lipid oxidation levels, underscoring the importance of antioxidant protection when using PUFA-rich ingredients. The combination of OC and linseed (OCEL) appears to be a strategic nutritional approach, offering both oxidative protection and enrichment of the meat's fatty acid profile, in line with the growing demand for natural and health-promoting animal products.

From a sustainability perspective, the combination of olive cake and linseed constitutes a viable alternative to conventional feedstuffs, offering potential advantages in mitigating environmental impacts.

Author Contributions: Conceptualization, P.D.C. and P.C.; methodology, P.D.C. and P.C.; validation, P.D.C. and P.C.; formal analysis, P.D.C., C.C., P.F., M.A.B. and C.G.; investigation, P.D.C., P.C. and G.F.C.; data curation, P.D.C., L.C., F.F., P.C. and G.F.C.; writing—original draft preparation, P.D.C.; writing—review and editing, P.D.C., L.C., M.S., P.C., G.F.C. and S.C.; supervision, P.C.; project administration, P.C.; funding acquisition, P.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Calabria 2014–2020 RDP-Measure 16, with Intervention 16.02.01, “Support of pilot projects and the development of new products, practices, processes and technologies”. Project title: “Valorization of by-products from olive oil industry through their utilization as a source of nutrients for animals”, Unique Project Code (CUP): J52C22000580005 (Scientific coordinator: Pasquale Caparra).

Institutional Review Board Statement: In this trial, the handling and experimental procedures were carried out according to the international guidelines (European Union, 2010) and approved by the Animal Welfare Committee of the Mediterranean University of Reggio Calabria (protocol no. 3015 of 16 February 2023).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The original contributions presented in this study are included in the article, and further inquiries can be directed to the corresponding author.

Acknowledgments: We thank the owner of the livestock farm, Carmine Mosca, for his help and collaboration during the experimental period. Thanks to Giovanni Iabichella of Mangimifico Iabichella S.p.A. (Ragusa, IT) for his support in formulating the concentrates. Thanks also to ARA Calabria, Agrocalabria S.R.L. and Industria Pellets of Gavino Brescia. Appreciation is also due to Bruno Battisti and Piero Brescia for their technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

- Scarlet, D. Annex: A New Circular Economy Action Plan for a Cleaner and More Competitive Europe. *J. Chem. Inf. Model* **2013**, *53*, 1689–1699. [[CrossRef](#)]
- Sherwood, J. The Significance of Biomass in a Circular Economy. *Bioresour. Technol.* **2020**, *300*, 122755. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sharma, P.; Gaur, V.K.; Sirohi, R.; Varjani, S.; Kim, S.H.; Wong, J.W.C. Sustainable Processing of Food Waste for Production of Bio-Based Products for Circular Bioeconomy. *Bioresour. Technol.* **2021**, *325*, 124684. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Vasta, V.; Nudda, A.; Cannas, A.; Lanza, M.; Priolo, A. Alternative Feed Resources and Their Effects on the Quality of Meat and Milk from Small Ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2008**, *147*, 223–246. [[CrossRef](#)]
- Gerber, P.J.; Uwizeye, A.; Schulte, R.P.O.; Opio, C.I.; de Boer, I.J.M. Nutrient Use Efficiency: A Valuable Approach to Benchmark the Sustainability of Nutrient Use in Global Livestock Production? *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **2014**, *9–10*, 122–130. [[CrossRef](#)]
- Salami, S.A.; Luciano, G.; O’Grady, M.N.; Biondi, L.; Newbold, C.J.; Kerry, J.P.; Priolo, A. Sustainability of Feeding Plant By-Products: A Review of the Implications for Ruminant Meat Production. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2019**, *251*, 37–55. [[CrossRef](#)]
- Scerra, M.; Bognanno, M.; Foti, F.; Caparra, P.; Cilione, C.; De Caria, P.; Fortugno, P.; Luciano, G.; Natalello, A.; Chies, L. Effect of high levels of almond hulls supplementation on performance and meat oxidative stability in lambs. *Meat Sci.* **2023**, *205*, 109295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Scerra, M.; Rao, R.; Foti, F.; Caparra, P.; Cilione, C.; Natalello, A.; Biondi, L.; Bella, M.S.; Chies, L. Influence of dietary inclusion of exhausted bergamot by-product in pigs on animal performance, fatty acid profile and oxidative stability of meat and meat products. *Animals* **2022**, *12*, 757. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Cifuni, G.F.; Claps, S.; Morone, G.; Sepe, L.; Caparra, P.; Benincasa, C.; Pellegrino, M.; Perri, E. Valorization of Olive Mill Byproducts: Recovery of Biophenol Compounds and Application in Animal Feed. *Plants* **2023**, *12*, 3062. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- García-González, D.L.; Aparicio, R. Research in Olive Oil: Challenges for the Near Future. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 12569–12577. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Alcaide, E.M.; Nefzaoui, A. Recycling of Olive Oil By-Products: Possibilities of Utilization in Animal Nutrition. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **1996**, *38*, 227–235. [[CrossRef](#)]
- Joven, M.; Pintos, E.; Latorre, M.A.; Suárez-Belloch, J.; Guada, J.A.; Fondevila, M. Effect of Replacing Barley by Increasing Levels of Olive Cake in the Diet of Finishing Pigs: Growth Performances, Digestibility, Carcass, Meat and Fat Quality. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2014**, *197*, 185–193. [[CrossRef](#)]
- Liotta, L.; Chiofalo, V.; Lo Presti, V.; Chiofalo, B. In Vivo Performances, Carcass Traits, and Meat Quality of Pigs Fed Olive Cake Processing Waste. *Animals* **2019**, *9*, 1155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Caparra, P.; Chies, L.; Scerra, M.; Foti, F.; Bognanno, M.; Cilione, C.; De Caria, P.; Claps, S.; Cifuni, G.F. Effect of Dietary Ensiled Olive Cake Supplementation on Performance and Meat Quality of Apulo-Calabrese Pigs. *Animals* **2023**, *13*, 2022. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Estaún, J.; Dosil, J.; Al Alami, A.; Gimeno, A.; De Vega, A. Effects of including olive cake in the diet on performance and rumen function of beef cattle. *Anim. Prod. Sci.* **2014**, *54*, 1817–1821. [[CrossRef](#)]
- Caparra, P.; Foti, F.; Cilione, C.; Scerra, M.; Vottari, G.; Chies, L. Olive cake, citrus pulp and wheat straw silage as an ingredient in lamb diets: 1. Effects on growth and carcass characteristics. *Ital. J. Anim. Sci.* **2003**, *2*, S488–S490. [[CrossRef](#)]
- Tzamaloukas, O.; Neofytou, M.C.; Simitzis, P.G. Application of olive by-products in livestock with emphasis on small ruminants: Implications on rumen function, growth performance, milk and meat quality. *Animals* **2021**, *11*, 531. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Herrero-Encinas, J.; Blanch, M.; Pastor, J.; Mereu, A.; Ipharraguerre, I.; Menoyo, D. Effects of a bioactive olive pomace extract from *Olea europaea* on growth performance, gut function, and intestinal microbiota in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 2–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Dal Bosco, A.; Mourvaki, E.; Cardinali, R.; Servili, M.; Sebastiani, B.; Ruggeri, S.; Mattioli, S.; Taticchi, A.; Esposto, S.; Castellini, C. Effect of dietary supplementation with olive pomaces on the performance and meat quality of growing rabbits. *Meat Sci.* **2012**, *92*, 783–788. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ferrer, P.; Calvet, S.; García-Rebollar, P.; Blas, C.; Jiménez-Belenguer, A.I.; Hernández, P.; Piquer, O.; Cerisuelo, A. Partially defatted olive cake in finishing pig diets: Implications on performance, faecal microbiota, carcass quality, slurry composition and gas emission. *Animal* **2020**, *14*, 426–434. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

21. Molina-Alcaide, E.; Yáñez-Ruiz, D.R. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2008**, *147*, 247–264. [[CrossRef](#)]
22. Glasser, F.; Ferlay, A.; Chilliard, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* **2008**, *91*, 4687–4703. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Marino, R.; Della Malva, A.; Caroprese, M.; De Palo, P.; Santillo, A.; Sevi, A.; Albenzio, M. Effects of whole linseed supplementation and treatment duration on fatty acid profile and endogenous bioactive compounds of beef muscle. *Animal* **2019**, *13*, 444–452. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Mills, S.; Ross, R.P.; Hill, C.; Fitzgerald, G.F.; Stanton, C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int. Dairy J.* **2011**, *21*, 377–401. [[CrossRef](#)]
25. Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the Protection of Animals at the Time of Killing (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* **2009**, *303*, 1–30.
26. European Union. Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council of 17 December 2013 establishing a common organisation of the markets in agricultural products and repealing Council Regulations (EEC) No 922/72, (EEC) No 234/79, (EC) No 1037/2001 and (EC) No 1234/2007. *Off. J. Eur. Union* **2013**, *L 347*, 671–854.
27. AOAC. *Official Methods of Analysis*, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 1995.
28. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 3583–3597. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Gray, I.K.; Rumsby, M.G.; Hawke, J.C. The variations in linolenic acid and galactolipid levels in Gramineae species with age of tissue and light environment. *Phytochemistry* **1967**, *6*, 107–113. [[CrossRef](#)]
30. Verma, B.; Hucl, P.; Chibbar, R.N. Phenolic content and antioxidant properties of bran in 51 wheat cultivars. *Cereal Chem.* **2008**, *85*, 544–549. [[CrossRef](#)]
31. Naczek, M.; Shahidi, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *41*, 1523–1542. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Rachieru, D.; Duca, R.; Olteanu, M. Validation of a method to determine vitamin E (alpha tocopherol) from feed ingredients by HPLC using reversed phase chromatography. *Univ. De Stiinte Agric. Si Med. Vet. La Lucr. stiintifice. Ser Zooteh.* **2009**, *52*, 543–547.
33. Siu, G.M.; Draper, H.H. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *J. Food Sci.* **1978**, *43*, 1147–1149. [[CrossRef](#)]
34. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* **2023**, *L 119*, 103–157.
35. Chiofalo, V.; Liotta, L.; Lo Presti, V.; Gresta, F.; Di Rosa, A.R.; Chiofalo, B. Effect of Dietary Olive Cake Supplementation on Performance, Carcass Characteristics, and Meat Quality of Beef Cattle. *Animals* **2020**, *10*, 1176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Martinez, L.; Ros, G.; Nieto, G. Hydroxytyrosol: Health benefits and use as functional ingredient in meat. *Medicines* **2018**, *5*, 13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Ponnampalam, E.N.; Kiani, A.; Santhiravel, S.; Holman, B.W.B.; Lauridsen, C.; Dunshea, F.R. The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: Antioxidant action, animal health, and product quality—Invited Review. *Animals* **2022**, *12*, 3279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Wang, Y.; Domínguez, R.; Lorenzo, J.M.; Bohrer, B.M. The Relationship between Lipid Content in Ground Beef Patties with Rate of Discoloration and Lipid Oxidation during Simulated Retail Display. *Foods* **2021**, *10*, 1982. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Mancini, R.A.; Hunt, M.C. Current research in meat color. *Meat Sci.* **2005**, *71*, 100–121. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Geletu, U.S.; Usmael, M.A.; Mummed, Y.Y.; Ibrahim, A.M. Quality of cattle meat and its compositional constituents. *Vet. Med. Int.* **2021**, *2021*, 7340495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Gómez, I.; García-Varona, C.; Curiel-Fernández, M.; Ortega-Herás, M. Effects of an extract from olive fruits on the physicochemical properties, lipid oxidation and volatile compounds of beef patties. *Foods* **2020**, *9*, 1728. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Amaral, A.B.; Silva, M.V.; Lannes, S.C.S. Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors—A review. *Food Sci. Technol.* **2018**, *38*, 1–15. [[CrossRef](#)]
43. Shahidi, F.; Zhong, Y. Measurement of antioxidant activity. *J. Funct. Foods* **2015**, *18*, 757–781. [[CrossRef](#)]
44. Vasta, V.; Luciano, G. The effects of dietary consumption of plant secondary compounds on small ruminants' product quality. *Small Rumin. Res.* **2011**, *101*, 150–159. [[CrossRef](#)]
45. Kaić, A.; Škorput, D.; Luković, Z.; Salajpal, K.; Kljak, K.; Radović, N.M.; Karolyi, D. Effect of Linseed Feeding on Carcass and Meat Quality and Intramuscular Fatty Acid Profile of Simmental Bulls Slaughtered at Different Ages. *Foods* **2025**, *14*, 1098. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Mele, M.; Serra, A.; Pauselli, M.; Luciano, G.; Lanza, M.; Pennisi, P.; Conte, G.; Taticchi, A.; Esposto, S.; Morbidini, L. The Use of Stoned Olive Cake and Rolled Linseed in the Diet of Intensively Reared Lambs: Effect on the Intramuscular Fatty-Acid Composition. *Animals* **2014**, *8*, 152–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

47. Conte, G.; Serra, A.; Casarosa, L.; Ciucci, F.; Cappucci, A.; Bulleri, E.; Corrales-Retana, L.; Buccioni, A.; Mele, M. Effect of linseed supplementation on total longissimus muscle lipid composition and shelf-life of beef from young Maremmana bulls. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *5*, 326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Holman, B.W.B.; Mao, Y.; Coombs, C.E.O.; van de Ven, R.J.; Hopkins, D.L. Relationship between colorimetric (instrumental) evaluation and consumer-defined beef colour acceptability. *Meat Sci.* **2016**, *121*, 104–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.J.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* **2019**, *8*, 429. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Mokhtar, S.M.; Youssef, K.M.; Morsy, N.E. The effects of natural antioxidants on colour, lipid stability and sensory evaluation of fresh beef patties stored at 4 °C. *J. Agroaliment. Process. Technol.* **2014**, *20*, 282–292.
51. Ripoll, G.; Casasús, I.; Albertí, P.; Blanco, M. Characteristics and meat quality evolution of veal produced in Mediterranean mountain areas. In *XIV Symposium of Animal Production*; CABI: Oxfordshire, UK, 2011; pp. 742–744.
52. Muñoz, I.; Díaz, M.T.; Apeleo, E.; Perez-Santaescolastica, C.; Rivas-Cañedo, A.; Pérez, C.; Cañeque, V.; Lauzurica, S.; de la Fuente, J. Valorisation of an extract from olive oil waste as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *J. Clean. Prod.* **2017**, *140*, 924–932. [[CrossRef](#)]
53. Branciari, R.; Ranucci, D.; Miraglia, D.; Urbani, S.; Esposto, S.; Servili, M. Effect of dietary treatment with olive oil by-product (olive cake) on physicochemical, sensory and microbial characteristics of beef during storage. *Ital. J. Food Saf.* **2015**, *4*, 225. [[CrossRef](#)]
54. Barriuso, B.; Astiasarán, I.; Ansorena, D. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task. *Eur. Food Res. Technol.* **2013**, *237*, 1–15. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Reggio Calabria, 23/09/2025

**Il Responsabile Scientifico del Progetto
(Prof. Pasquale Caparra)**

Firmato digitalmente da: Pasquale Caparra
Organizzazione: UNIVERSITAMEDITERRANEA/00163260805
Limitazioni d'uso: Explicit text: I titolari fanno uso del
certificato solo per le finalità di lavoro per le quali esso è
rilasciato. The certificate holder must use the certificate only
for the purposes for which it is issued.
Data: 23/09/2025 20:07:22