

Mikrobiološka i fizikalno-kemijska svojstva autohtone trajne kobasice od kokošjeg mesa

Nevido Zdolec^{1*}, Marta Kiš¹, Željka Cvrtila¹, Tomislav Mikuš¹, Snježana Kazazić², Jelka Pleadin³, Tina Lešić³, Lidija Kozačinski¹, Vesna Dobranić¹, Hrvoje Mazija⁴

Sažetak

Cilj ovog rada bio je odrediti mikrobiološka i fizikalno-kemijska svojstva novog - proizvoda - trajne kobasice od mesa kokoši. Za proizvodnju kobasica korišteno je mišićje prsa i zabataka nesilica hibrida teških pasmina COBB 500 (n=150) na kraju razdoblja nesenja u dobi od 62 do 65 tjedana. Tijekom 30 dana prije klanja, kokoši su dohranjivane smjesom žitarica te zaklane u odobrenoj klaonici. Otkoštavanje, izrada nadjeva te zrenje je obavljeno na OPG-u tijekom prosinca 2019. do ožujka 2020. godine. U sirovini, nadjevu i gotovom proizvodu određivan je broj aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija mliječne kiseline, enterokoka, enterobakterija, kvasaca i plijesni, *Escherichia coli* te prisutnost *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. Sojevi bakterija mliječne kiseline i enterokoka (n=16) na kraju zrenja determinirani su pomoću MALDI-TOF spektrometrije masa. Kemijski, određen je udio vode, aktivitet vode, pH, udio NaCl-a, pepela, masti, bjelančevina i hidrokisprolina, sastav masnih kiselina te kolesterol. Patogene bakterije nisu utvrđene, dok je u gotovom proizvodu broj bakterija mliječne kiseline i enterokoka iznosio 7-8 log₁₀ CFU/g odnosno 6 log₁₀ CFU/g, uz prevladavajuće vrste *Lactobacillus sakei* i *Enterococcus faecalis*. Prosječni udjeli bjelančevina, kolagena i masti iznosili su 46,28 ± 3,14 %, 1,89 ± 0,21 % i 11,15 ± 0,90 %, a kolesterola 98,9 ± 9,93 mg/100 g. Jednostruko nezasićene masne kiseline (MUFA) bile su zastupljene s 52,81 %, zasićene (SFA) s 34,82 %, a višestruko nezasićene (PUFA) s 12,37 %. Prednosti trajne kobasice od isključivo kokošjeg mesa u odnosu na one drugih vrsta mesa očituju se u većem udjelu bjelančevina, vrlo malom udjelu masti te nutritivno povoljnijem sadržaju i omjeru masnih kiselina.

Ključne riječi: trajne kobasice od kokošjeg mesa, proces proizvodnje, mikroflora, kemijski sastav

Uvod

Autohtona proizvodnja trajnih kobasica od mesa različitih vrsta životinja tradicionalno je zastupljena u našoj zemlji još od davnina. Komplek-

snost takve proizvodnje temeljena je na složenom procesu fermentacije tijekom kojeg se odvijaju brojni mikrobiološki i fizikalno-kemijski procesi kojima

¹ dr. sc. Nevido Zdolec, izvanredni profesor; Marta Kiš, dr. med. vet., asistentica; dr. sc. Željka Cvrtila, dipl. ing., redovita profesorica; dr. sc. Tomislav Mikuš, poslijedoktorand; dr. sc. Lidija Kozačinski, redovita profesorica u trajnom zvanju; dr. sc. Vesna Dobranić, redovita profesorica; Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvatska

² dr. sc. Snježana Kazazić, znanstvena suradnica; Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb, Hrvatska

³ dr. sc. Jelka Pleadin, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju, izvanredna profesorica; Tina Lešić, mag. ing., stručni suradnik; Laboratorij za analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, Zagreb, Hrvatska

⁴ dr. sc. Hrvoje Mazija, profesor emeritus; Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatski institut za eksperimentalnu i translacijsku onkologiju, Koledinečka 3, Zagreb, Hrvatska

*Autor za korespondenciju: nzdolec@vef.hr

se osigurava kakvoća i sigurnost konačnog proizvoda, kao i specifična organoleptička svojstva (Zdolec, 2017.). S prehrambenog stajališta, posljednjih nekoliko godina povećana je potražnja za trajnim mesnim proizvodima s manjim udjelom masti te povoljnijim sastavom masnih kiselina (El Adab i sur., 2014.).

Slijedom navedenog, kao pogodna sirovina za takve proizvode nameće se meso peradi, imajući na umu njegov kemijski sastav te prehrambenu vrijednost. Naime, poznato je da takvo meso, u odnosu na crveno, sadrži obilje bjelančevina, manji postotak masti, kolesterola i vezivnog tkiva, a ujedno je izvor svih esencijalnih aminokiselina (Menegas i sur., 2013.). Treba posebno istaknuti i činjenicu da konzumacija mesa peradi nije kulturološki i religijski ograničena kao što je slučaj kod svinjetine ili govedine.

Unatoč navedenome, kobasice od mesa peradi još uvijek nisu zastupljene u uobičajenom asortimanu mesnih industrija, što je posljedica nedovoljne proizvodnje koja je i dalje zanemariva u odnosu na kobasice proizvedene od crvenog mesa. Kao mogući razlozi još uvijek nerazvijene djelatnosti navode se problemi vezani uz značajke sirovine, jer njezin fizikalno-kemijski sastav iziskuje složeniji tehnološki pristup procesu proizvodnje (Zinina, 2018.). Nadalje, meso peradi predstavlja idealni medij za rast patogenih mikroorganizama (Mataragas i sur., 2008.), posebno *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* i *Campylobacter* spp. (Anang i sur., 2007.; Kozačinski i sur., 2006.; Loura i sur., 2005.), no pri preradi mesa u trajne proizvode mikrobiološki rizici bi se trebali ograničiti kombiniranjem dostupnih tehnologija i stvaranjem nepovoljnih uvjeta za rast patogenih bakterija (Zdolec, 2017.).

Proizvodnja trajnih kobasica od mesa peradi u Republici Hrvatskoj tek je u razvoju. Jedina proizvodnja gdje je iskorišten potencijal takve sirovine u tradicijskoj proizvodnji provodi se u OPG Peradarstvo Varešak, Pleternica, vlasnika Milana Varešaka, koji je izvorno razvijao postupak proizvodnje trajnih kobasica od mesa kokoši posljednjih 20-tak godina. Ovaj rad opisuje tehnološki proces njihove proizvodnje te mikrobiološka i fizikalno-kemijska svojstva ovog moguće novog proizvoda na tržištu.

Materijal i metode

Sirovina, priprema nadjeva i zrenje

U istraživanju su korištene rasplodne nesilice hibrida teških pasmina kokoši COBB 500 na

kraju turnusa u dobi od 62 do 65 tjedana. Držane su podno i hranjene smjesom za rasplodne nesilice (Cobb, Njemačka).

Za proizvodnju trajnih kobasica na kraju turnusa odabrano je 150 nesilica koje su dohranjivane smjesom žitarica tijekom 30 dana. Klanje i hlađenje trupova provedeno je u odobrenom klaoničkom objektu. Za pripremu nadjeva na OPG-u je ručno iskošteno isključivo mišićje prsa i zabataka i potom usitnjeno električnim uređajem (promjera otvora ploče 8 mm). Usitnjeno meso miješano je električnom mješalicom uz dodatak 2 % NaCl-a te mljevene crvene paprike i češnjaka. Ručnom punilicom smjesa je nadjevana u kolagena crijeva (promjera 45 mm). Nadjevene kobasice ovješane su i ostavljene dva dana u tamnoj prostoriji pri temperaturi 15 °C. Nadjeveno je 396 kobasica ukupne mase 295 kilograma te smještene u klasičnu pušnicu (sušionicu) s ugrađenim sustavom za prozračivanje. Dimljene su u pet navrata tijekom pet sati, laganim izgaranjem drva bukve i graba u vanjskom ložištu, a hladni dim dovoden cijevima u pušnicu. Sušenje i zrenje kobasica trajalo je 90 dana, od prosinca 2019. do ožujka 2020. godine.

Uzorkovanje i analize

Mjerenja u tijeku zrenja

Svaka pojedinačna kobasica izvagana je neposredno nakon nadjevanja i na kraju zrenja. Tijekom procesa zrenja u sušionici mjereni su temperatura i vlažnost zraka (VOLTcraft VC4in1, Njemačka).

Laboratorijske analize

Za laboratorijske analize uzorkovano je i analizirano po dva uzorka ohlađenog iskoštenog mesa, smjese za nadjevanje i nadjevene kobasice. Na kraju zrenja uzorkovano je i analizirano šest kobasica. Određivan je broj aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija mliječne kiseline (BMK), enterokoka, enterobakterija, kvasaca i plijesni, *Escherichia coli* te prisutnost *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. U kokošnjem mesu, smjesi za nadjevanje i nadjevenoj kobasici određen je udio vode, pepela i masti te aktivitet vode, a u gotovom proizvodu dodatno i udjeli bjelančevina, kolagena, hidroksiprolina, NaCl-a, masnih kiselina, kolesterola te pH.

Mikrobiološke analize

Aseptički je uzeto 10 g uzorka i homogenizirano ti-

jekom dvije minute (Stomacher 400 Circulator, Seward, UK) u 90 mL puferirane peptonske vode (BioRad, SAD). Potom su pripremljena serijska decimalna razrjeđenja od kojih je 0,1 mL ili 1 mL nasađeno na hranjive podloge. Broj aerobnih mezofilnih bakterija određen je primjenom Plate Count Agara (PCA, bioMerieux, Francuska) inkubanjem pri 30 °C tijekom 72 sata, broj BMK na MRS i M17 agaru (Merck, Njemačka) pri 30 °C tijekom 48 h, enterokoka na Compass *Enterococcus* agaru (BioRad, SAD) pri 44 °C tijekom 24 h, enterobakterija na VRBG (Merck, Njemačka) pri 37 °C 24 h, kvasaca i plijesni na YGC agaru (Merck, Njemačka) tijekom pet dana pri 25 °C, *E. coli* na Rapid *E. coli*2 (BioRad, SAD) pri 37 °C tijekom 24 h. Za izolaciju bakterija roda *Salmonella* i *L. monocytogenes* korištene su metode HRN ISO 6579-1:2017 odnosno HRN ISO 11290-1:2017.

Determinacija bakterija mliječne kiseline i enterokoka

Nakon inkubacije MRS ploča slučajnim odabirom je uzeto 20 kolonija s najvećih razrjeđenja (MRS, M17, Compass *Enterococcus* agar). Provjeren je morfološka bakterija te uzeto šest izolata enterokoka i 10 izolata bakterija mliječne kiseline. Identifikacija izolata provedena je pomoću MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight; matricom potpomognuta ionizacija desorpcijom laserskog zračenja-analizator masa s vremenom leta) spektrometrije masa. Kolonija izolata je sterilnom čačalicom stavljena na jedno mjesto MALDI pločice te je na nju dodan 1 µL 70 %-tne mravlje kiseline (v/v) (Fisher Chemical, Španjolska). Uzorak, osušen pri sobnoj temperaturi prekriven je s 1 µL MALDI matriksa (zasićena otopina α -cyano-4-hidroksicinamične kiseline (HCCA, Bruker Daltonik, Njemačka) u 50% acetonitrila i 2,5% trifluorooctene kiseline (Fisher Chemical, Španjolska) te ponovno osušen pri sobnoj temperaturi. Primjenom microflex LT spektrometra masa (Bruker Daltonik, Njemačka) za svaki izolat snimljeni su karakteristični spektri masa proteina u rasponu m/z od 2 000 do 20 000 Da. Snimljeni spektri masa obrađeni su pomoću MALDI Biotyper 3.0 računalnog programa (Bruker Daltonik, Njemačka). Rezultat MALDI Biotyper-a izražen je kao logaritamska vrijednost u rasponu 0–3,0, što predstavlja vjerojatnost točne identifikacije izolata, temeljem usporedbe proteinskih profila nepoznatog izolata s referentnim spektrom u bazi podataka.

Kemijske analize

Testni uzorci (300 g) homogenizirani su uređajem Grindomix GM 200 (Retch, Njemačka) tijekom 15 s pri 6000 okretaja/min, u skladu s normom ISO 3100-1:1991. Odmah nakon homogenizacije uzorci su stavljeni u plastične posudice te pohranjeni pri 4 °C do provedbe analiza. Udio vode određen je metodom ISO 1442:1997, masti ISO 1443:1999, bjelančevina HRN ISO 937:1999, pepela ISO 936:1998, hidroksiprolina i kolagena HRN ISO 3496:1994, NaCl-a metodom po Mohru, pH pomoću pH-metra (pH 510 Eutech Instruments, Nizozemska) u vodenoj iscrpini te aktivitet vode (aw) uređajem HigrPalm AW1 (Rotronic, Švicarska).

Metilni esteri masnih kiselina pripremljeni su iz ekstrahirane masti prema normi HRN EN ISO 12966-2:2011, koju čini trans-metilacija uporabom metanolne otopine KOH. Pripravljeni metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom kromatografijom prema normi HRN EN ISO 12966-4:2015 plinskim kromatografom 7890B (Agilent Technologies, SAD) sa split/splitless injektorom (270 °C), plameno-ionizacijskim detektorom (280 °C) i kapilarnom kolonom DB-23 (dužina 60 mm, promjer 0,25 mm, debljine sloja nepokretne faze 0,25 µm) (Lešić i sur., 2017). Količine pojedinačnih masnih kiselina izražene su kao udio pojedine masne kiseline u ukupnim masnim kiselinama (% w/w), a limit detekcije (LOD) analitičke metode iznosio je 0,05 %. Količina kolesterola određena je enzimskom metodom uz korištenje kita Cholesterol (Roche-Biopharm, Darmstadt, Njemačka) i prethodnu pripremu ispitnih uzoraka saponifikacijskom metodom koju detaljno opisuju Pleadin i sur. (2010).

Rezultati

Temperatura i vlažnost zraka tijekom proizvodnje kobasica mjereni su u prostoru pušnice svakodnevno. Prosječne vrijednosti temperature i vlažnosti zraka tih mjerenja u prosincu 2019. su iznosile $5,88 \pm 1,73$ °C i $71,25 \pm 9,04$ %, potom u siječnju $5,32 \pm 1,27$ °C i $63,41 \pm 1,70$ %, veljači $7,06 \pm 0,70$ °C i $66,65 \pm 0,97$ %, te ožujku (kraj zrenja 5. ožujka) $8,40 \pm 0,54$ °C i $66,80 \pm 1,09$ %. Prosječna masa kobasica na početku zrenja iznosila je 745 g, dok je 90. dana iznosila 407 g, što čini gubitak sušenjem od 45,4 %. Rezultati mikrobioloških analiza sirovine i gotovih proizvoda prikazani su u tablici 1, dok su u tablici 2 prikazani rezultati determinacije izolata bakterija mliječne kiseline i enterokoka. U tablicama 3. i 4.

Tablica 1. Rezultati mikrobioloških analiza kokošnjeg mesa (prsna, zabatak), nadjeva i gotovih proizvoda (\log_{10} CFU/g, $X \pm SD$)

Table 1 Results of microbiological analyses of hen meat, sausage batter and final products (\log_{10} CFU/g, $X \pm SD$)

	0. dan / Day 0		90. dan / Day 90	
	Meso/Meat	Nadjev/Batter	Kobasica/Sausage	
<i>Salmonella</i> spp./25g	n.n.	n.n.	n.n.	–
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	n.n.	n.n.	n.n.	–
Aerobne mezofilne bakterije Total viable count	5,32 ± 0,45	5,08 ± 0,12	5,0 ± 0,00	7,4 ± 0,14
Bakterije mliječne kiseline (MRS) Lactic acid bacteria (MRS)	5,08 ± 0,09	5,14 ± 0,30	4,62 ± 0,09	7,77 ± 0,32
Bakterije mliječne kiseline (M17) Lactic acid bacteria (M17)	4,76 ± 0,07	4,63 ± 0,02	4,64 ± 0,09	7,91 ± 0,19
Enterokoki Enterococci	4,55 ± 0,07	4,06 ± 0,87	4,55 ± 0,07	5,94 ± 0,67
Enterobakterije Enterobacteria	2,71 ± 2,42	4,64 ± 0,00	4,71 ± 0,04	<1
Kvasci i plijesni Yeasts and molds	<2	<2	<2	4,5 ± 0,70
<i>E. coli</i>	2,22 ± 0,08	2,46 ± 0,07	1,72 ± 0,59	<2

n.n. = nije nađeno

Tablica 2. Rezultati determinacije izolata s Compass *Enterococcus* agara (n=6), MRS agara (n=5) i M17 agara (n=5) pomoću MALDI-TOF MS.

Table 2 Results of determination of isolates from Compass *Enterococcus* agar (n=6), MRS agar (n=5) i M17 agar (n=5) by using MALDI-TOF MS

Izolati / Isolates	Identificirana vrsta Identified species	MALDI score *
E 1	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.218
E 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.286
E 3	<i>Enterococcus faecium</i>	2.308
E 4	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.372
E 5	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.315
E 6	<i>Enterococcus faecalis</i>	2.320
MRS 1	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.297
MRS 2	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.155
MRS 3	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.342
MRS 4	<i>Lactobacillus curvatus</i>	2.211
MRS 5	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.329
M17 1	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.307
M17 2	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.354
M17 3	<i>Lactobacillus curvatus</i>	2.236
M17 4	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.199
M17 5	<i>Lactobacillus sakei</i>	2.345

* MALDI score: 2.000 do 2.299 prikazuje sigurnu identifikaciju roda i vjerojatnu identifikaciju vrste; 2.300 do 3.000 prikazuje vrlo vjerojatnu identifikaciju vrste

prikazani su rezultati fizikalno-kemijskih analiza.

Rasprava

Trajne kobasice od mesa peradi, uključujući meso hibrida teških pasmina kokoši nesilica na trži-

štu predstavljaju svojevrsni raritet. Kompleksnost proizvodnje uvjetovana je visokim udjelom vode i sporijim sušenjem, malim udjelom masti i slabom povezanošću nadjeva. To se obično nastoji nadomi-

Tablica 3. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza kokošnjeg mesa (prsna, zabatak), nadjeva i gotovih proizvoda ($X \pm SD$)
Table 3 Results of physico-chemical analyses of hen meat, sausage batter and final products ($X \pm SD$)

	0. dan / Day 0		90. dan / Day 90	
	Meso/Meat	Nadjev/Batter	Kobasica/Sausage	
Voda (%) / Moisture	72,32 ± 1,10	72,99 ± 1,16	69,92 ± 0,62	39,22 ± 1,66
Aktivitet vode (aw) / Water activity	0,96 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,93 ± 0,00	0,86 ± 0,01
Bjelančevine (%) / Proteins	23,86 ± 1,12	/	/	46,28 ± 3,14
Hidrokiprolin (%) / Hydroxyproline	/	/	/	0,23 ± 0,02
Kolagen (%) / Collagen	/	/	/	1,89 ± 0,21
NaCl (%)	/	/	/	4,87 ± 0,25
Mast (%) / Fat	2,00 ± 0,50	8,85 ± 0,28	11,91 ± 0,20	11,15 ± 0,90
Kolesterol (mg/100 g) / Cholesterol	/	/	/	98,90 ± 9,93
Pepeo (%) / Ash	1,56 ± 0,50	1,52 ± 0,72	2,73 ± 0,39	5,82 ± 0,19
pH	/	/	/	5,13 ± 0,17

Tablica 4. Sastav masnih kiselina u trajnim kobasicama od kokošnjeg mesa
Table 4 Fatty acid content of dry fermented hen meat sausages

	Udio masnih kiselina (%)*			
	X	SD	Min	Max
C12:0	n.d.	-	n.d.	n.d.
C14:0	0,62	0,02	0,60	0,65
C14:1	0,14	0,00	0,14	0,15
C15:0	0,09	0,00	0,08	0,09
C16:0	26,03	0,45	25,55	26,74
C16:1n7t	0,63	0,03	0,60	0,67
C16:1n7c	5,14	0,04	5,10	5,20
C17:0	0,20	0,01	0,19	0,21
C17:1	0,08	0,01	0,06	0,09
C18:0	7,61	0,19	7,36	7,84
C18:1n9t	0,16	0,01	0,15	0,17
C18:1n9c	44,02	0,13	43,81	44,20
C18:1n7	2,16	0,05	2,09	2,22
C18:2n6t	0,08	0,00	0,07	0,08
C18:2n6c	11,38	0,60	10,45	12,10
C18:3n6	0,08	0,01	0,07	0,09
C18:3n3 (ALA)	0,46	0,04	0,41	0,50
C20:0	0,07	0,00	0,07	0,08
C20:1n9	0,38	0,01	0,36	0,38
C20:2n6	0,11	0,01	0,10	0,12
C20:3n6	0,05	0,05	n.d.	0,09
C20:4n6	0,22	0,02	0,20	0,24
C23:0	0,19	0,07	0,14	0,30
C24:1n9	0,11	0,13	n.d.	0,30
SFA (%)	34,82	0,16	n.p.	n.p.
MUFA (%)	52,81	0,05	n.p.	n.p.
PUFA-omega6	11,91	0,24	n.p.	n.p.
PUFA-omega3	0,46	0,04	n.p.	n.p.
PUFA (%)	12,37	0,22	n.p.	n.p.
PUFA/SFA	0,36	n.p.	n.p.	n.p.
n-6/n-3 PUFA	25,86	n.p.	n.p.	n.p.

*Količine pojedinačnih masnih kiselina izražene su kao udio pojedine masne kiseline u ukupnim masnim kiselinama (% w/w)
n.d. – nije detektirano; limit detekcije (LOD) = 0,05%;
n.p. – nije primjenjivo

jestiti dodavanjem svinjskog čvrstog masnog tkiva, starter kultura i drugih dodataka (Zinina i sur., 2018.). Ovo istraživanje, međutim, opisuje izradu trajne kobasice isključivo od čistog kokošnjeg mesa (prsa i zabatak) s pripadajućim masnim tkivom uz dodatak soli i začina te zrenjem tijekom zimske sezone u prirodnim uvjetima. Temperatura i vlažnost zraka nisu značajno oscilirali (dnevno mjerenje u istom periodu dana), osim vlažnosti zraka tijekom prosinca 2019. (dnevne promjene i do 20 %) što može utjecati nepovoljno na kakvoću proizvoda.

Mikrobiološko onečišćenje sirovine uvjetovano je okolišnom mikroflorom, očekivano, jer se nadjev pripremao na OPG-u u nekontroliranim uvjetima (Tablica 1). Slična mikrobiološka slika sirovine i nadjeva, kao i radnih površina, bilježi se i u tradicionalnoj proizvodnji trajnih kobasica od drugih vrsta mesa (Zdolec i sur., 2007., Kozačinski i sur., 2008.). Patogene bakterije roda *Salmonella* i *L. monocytogenes* nisu nađene, što govori o povoljnim higijenskim/zdravstvenim uvjetima u procesu od peradarske farme i uslužnog klaoničkog objekta do OPG-a. Početni broj enterobakterija i *E. coli* u nadjevu se tijekom zrenja smanjio ispod granica detekcije metoda što također ide u prilog mikrobiološkoj sigurnosti proizvoda. Gram-negativne bakterije prisutne u nadjevu obično ne preživljavaju u uvjetima niskog pH trajnih kobasica, međutim, to je ovisno o uvjetima fermentacije kao i brojnosti mikrobne populacije (Paramithiotis i Drosinos, 2017.). Početna populacija bakterija mliječne kiseline u nadjevu bila je na razini vrijednosti drugih istraživanja trajnih kobasica od peradi (Zinina i sur., 2018.), koja se tijekom fermentacije višestruko povećava (Zdolec, 2017.). Broj bakterija mliječne kiseline je na kraju zrenja bio iznad $7 \log_{10}$ CFU/g, što govori o stabilnoj populaciji ovih zdravstveno-tehnološki najvažnijih bakterija tijekom zrenja. Također, u nadjevu i gotovom proizvodu je utvrđen značajan broj enterokoka ($4 - 6 \log_{10}$ CFU/g). Njihov nalaz uobičajen je u autohtonim trajnim kobasicama, dobro se prilagođavaju mesnom supstratu, mogu pokazivati probiotička svojstva, stvarati antimikrobne metabolite, te doprinositi senzornim svojstvima kobasica (Vukušić i Zdolec, 2020.). Međutim, pojedini sojevi enterokoka mogu stvarati biogene amine ili prenositi gene rezistencije prema antibioticima pa je nužna njihova temeljita procjena sigurnosti. Mikrobiološke i biokemijske promjene tijekom zrenja trajnih kobasica uvjetovane su prvenstveno aktivnošću dominantnih bakterija mliječne kiseline. U tom smislu u ovom je radu

izvršena determinacija izolata pomoću MALDI-TOF masene spektrofotometrije (Institut Ruđer Bošković, Tablica 2). Rezultati su pokazali da u nadjevu istraživanih tradicionalnih trajnih kobasica od kokošnjeg mesa prevladavaju dvije vrste laktobacila i to primarno *Lb. sakei* te *Lb. curvatus*, što je izrazito povoljan nalaz. Naime, te vrste su tehnološki najprihvatljivije u fermentaciji mesa i koriste se u industrijskim uvjetima tj. kao starter kulture, a i dominiraju u većini tradicionalnih trajnih kobasica Europe (Miličević i sur., 2014.). Izolati enterokoka determinirani su kao *E. faecalis* i *E. faecium*, te su za njihovu ulogu u fermentaciji kokošnjeg mesa potrebna daljnja istraživanja. Ove dvije vrste se također najčešće izoliraju iz tradicionalnih kobasica proizvedenih od drugih vrsta mesa (Franz i sur., 2003.). S obzirom da prema našim saznanjima ne postoje podatci o determinaciji bakterija mliječne kiseline iz tradicionalnih trajnih kobasica od kokošnjeg mesa, ovo istraživanje je početni korak u daljnjoj karakterizaciji te mikroflore. Naredna istraživanja će obuhvatiti probiotička svojstva autohtonih sojeva laktobacila i enterokoka, kao i njihovu primjenjivost u kontroliranoj proizvodnji trajnih kobasica od mesa kokoši nesilica u obliku starter kultura.

Kako u literaturi ne postoje podatci o fizikalno-kemijskim svojstvima tradicionalnih trajnih kobasica isključivo od mesa kokoši, već tek industrijskih pokusnih kobasica od pilećeg i purećeg mesa, ali uz dodatke masti, ulja, aditiva, starter kultura itd. (Menegas i sur., 2013.), rezultate ovog istraživanja uspoređujemo s onima za tradicionalne trajne kobasice iz našeg podneblja, proizvedene od svinjskog/goveđeg mesa. Udjeli vode ($39,22 \pm 1,66$ %), soli ($4,87 \pm 0,25$ %), pepela ($5,82 \pm 0,19$ %), aktivitet vode ($0,86 \pm 0,01$) i vrijednosti pH ($5,13 \pm 0,17$) na kraju zrenja trajnih kokošnjih kobasica sukladni su vrijednostima drugih vrsta trajnih kobasica iz kućanstava, no usporedbe su donekle ograničene trajanjem zrenja (Zdolec i sur., 2007.; Kovačević i sur., 2009.; Kovačević i sur., 2010.; Pleadin i sur., 2013.; Zdolec i sur., 2017.; Zdolec i sur., 2020.). Prosječan udio bjelančevina utvrđen u ovom istraživanju ($46,28 \pm 3,14$ %) istovjetan je onome u tradicionalno proizvedenom kulenu (Pleadin i sur., 2013.), što govori o nutritivno visoko vrijednom proizvodu. Također, prosječan udio kolagena u kokošnjim kobasicama ($1,89 \pm 0,21$ %) niži je u odnosu na trajne kobasice na tržištu (Peinović i sur., 2018.).

Nadalje, trajna kobasica od kokošnjeg mesa imala je prosječno 11 % masti, što je klasificira kao

low-fat proizvod (Yilmaz i sur., 2002.) dok tradicionalne kobasice od drugih vrsta mesa u Hrvatskoj sadrže masti u rasponu 15 – 40 % (Pleadin i sur., 2010., 2013.) ili 24 – 60 % (Kovačević i sur., 2009.). Pri tome je razvidna velika varijabilnost kemijskog sastava kobasica između kućanstava/OPG-ova. Udio kolesterola u kokošnjim trajnim kobasicama prosječno iznosi 98,9 mg/100g što je više u odnosu na kobasice od drugih vrsta mesa. Pleadin i sur. (2010.) našli su 43,06 mg/100g kolesterola u domaćem kulenu, a u ostalim domaćim trajnim kobasicama 47,5 mg/100g. Navode da je udio kolesterola, iako ne proporcionalno, niži u proizvodima s nižim udjelom sirove masti. Ovim istraživanjem, s obzirom na utvrđen udio masti, ovo saznanje nije potvrđeno. Zastupljenost skupina masnih kiselina bila je redom: jednostruko nezasićene (MUFA, 52,81 %), potom zasićene masne kiseline (SFA, 34,82 %) i najmanje višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA, 12,37 %). Uspoređujući prosječne vrijednosti s drugim trajnim kobasicama na tržištu (Lešić i sur., 2017.), kokošje trajne kobasice imaju manje zasićenih i višestruko nezasićenih, a više jednostruko nezasićenih masnih kiselina. Najzastupljenije su bile oleinska (MUFA, C18:1n9c) s 44,02 %, potom palmitinska (SFA, C16:0) 26,03 %, linolna (PUFA-omega6, C18:2n6c) 11,38 %, stearinska (SFA, C18:0) 7,61 % te palmitoleinska (MUFA, C16:1n7c) 5,14 %.

Omjer PUFA/SFA u ovom istraživanju iznosio je 0,36 i veći je u odnosu na trajne kobasice od drugih vrsta mesa (Lešić i sur., 2017.) uslijed manje količine zasićenih masnih kiselina u kokošnjem mesu,

što možemo smatrati pokazateljem bolje nutritivne vrijednosti masti trajne kobasice od kokošnjeg mesa. Omjer pak n-6/n-3 PUFA kiselina određen u ovom istraživanju iznosi 25,86, što je nepovoljan omjer kao što je slučaj i u drugim vrstama trajnih kobasica na tržištu, a temelji se na visokom udjelu linolne kiseline (Lešić i sur., 2017.).

Zaključno, u ovom radu prikazani su preliminarni rezultati fizikalno-kemijskih i mikrobioloških analiza novog proizvoda, trajne kobasice od mesa rasplodnih kokoši nesilica hibrida teških pasmina, iz tradicionalne proizvodnje u kućanstvu. Mikrobiološki pokazatelji govore o proizvodu sigurnom za potrošače. Populacijom bakterija mliječne kiseline u nadjevu prevladava vrsta *Lb. sakei*, koja je tehnološki optimalna vrsta u fermentaciji mesa općenito. Prednosti ovog novog proizvoda u odnosu na trajne kobasice od drugih vrsta mesa očituju se u vrlo malom udjelu masti, optimalnom udjelu bjelancevina te nutritivno povoljnijem omjeru i sadržaju masnih kiselina. Posebno je važno naglasiti prihvatljivost ovog proizvoda za pripadnike svih konfesija.

Zahvala

Istraživanje je financiralo Sveučilište u Zagrebu sredstvima potpore istraživanju naslova „Razvoj novog proizvoda: trajna kobasica od kokošnjeg mesa“. Autori se posebno zahvaljuju Milanu Varešaka koji je omogućio provođenje istraživanja na Peradarstvu Varešak i OPG-u. Zahvala i tehničkoj suradnici Ani Konjević na pomoći u provođenju mikrobioloških analiza.

Literatura

- [1] Anang, D.M., G. Rusul, J. Bakar, F.H. Jing (2007): Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in chicken breast stored at 4 °C. *Food Control*, 18, 8, 961-969.
- [2] El Adab, S., I. Essid, M. Hassouna (2014): Microbiological, biochemical and textural characteristics of a Tunisian dry fermented poultry meat sausage inoculated with selected starter cultures. *Journal of Food Safety* 35, 75-85.
- [3] Franz, C.M.A.P., M.E. Stiles, K.H. Schleifer, W.H., Holzapfel (2003): Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology* 88, 105-122.
- [4] HRN EN ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method
- [5] HRN EN ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- [6] HRN EN ISO 12966-2:2011 Animal and vegetable fats and oils - Preparation of methyl esters of fatty acids
- [7] HRN EN ISO 12966-4:2015 Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 4: Determination by capillary gas chromatography.
- [8] HRN ISO 1443:1999 Meat and meat products - Determination of total fat content.
- [9] ISO 3100-1:1991 Meat and meat products - Sampling and preparation of test samples - Part 1: Sampling.
- [10] Kovačević, D., K. Šuman, D. Subarić, K. Mastanjević, S. VIDAČEK (2009): Investigation of homogeneity and physicochemical characterisation of the homemade Slavonian Sausage. *Meso* 9, 338-344.
- [11] Kovačević, D., K. Mastanjević, D. Šubarić, I. Jerković, Z. Marijanović (2010): Physico-chemical, colour and textural properties of Croatian traditional dry sausage. *Meso* 12, 270-275.

- [12] Kozačinski, L., M. Hadžiosmanović, N. Zdolec (2006): Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinarski arhiv*, 76, 4, 305-313.
- [13] Kozačinski, L., M. Hadžiosmanović, Ž. Cvrtila Fleck, N. Zdolec, I. Filipović, Z. Kozačinski (2008): Kakvoća trajnih kobasica i češnjovki iz individualnih domaćinstava. *Meso* 10, 1, 45-52.
- [14] Lešić, T., S. Kolarić Kravar, G. Krešić, J. Pleadin (2017): Nutritivna kvaliteta masti industrijskih kobasica. *Meso* 19, 496-503.
- [15] Loura C.A.C., R.C.C. Almeida, P.F. Almeida (2005): The incidence and level of *Listeria* spp, and *Listeria monocytogenes* contamination in processed poultry at a poultry processing plant. *Journal of Food Safety*, 25, 1, 19-29.
- [16] Mataragas M., P.N. Skandamis, E.H. Drosinos (2008): Risk profiles of poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 1-12.
- [17] Menegas, L. Z., T. Colombo Pimentel, S. Garcia, S. H. Prudencio (2013): Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat Science*, 93, 501-506.
- [18] Miličević, B., B. Danilović, N. Zdolec, L. Kozačinski, V. Dobranić, D. Savić (2014): Microbiota of the fermented sausages: influence to product quality and safety. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 20, 1061-1078.
- [19] Paramithiotis, S., E.H. Drosinos (2017): Foodborne pathogens of fermented meat products. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 196-227.
- [20] Peinović, L., L. Kozačinski, J. Pleadin, L. Dergestin Bačun, Ž. Cvrtila (2018): Kvaliteta kobasica s hrvatskog tržišta. *Meso* 20, 3, 229-233.
- [21] Pleadin, J., N. Vahčić, N. Perši, A. Vulić, M. Volarić, I. Vraneš (2010): Sadržaj kolesterola u domaćim i industrijskim kobasicama. *Meso* 12, 156-160.
- [22] Pleadin, J., N. Perši, N. Vahčić, D. Kovačević (2013): Varijabilnost fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava autohtonih mesnih proizvoda između proizvodnih domaćinstava. *Meso* 15, 2, 122-131.
- [23] Vukušić, N., N. Zdolec (2020): Utjecaj bakteriocina enterokoka na odabrane uzročnike bolesti prenosivih hranom. *Veterinarska stanica* 51, 2, 139-143.
- [24] Zdolec, N., M. Hadžiosmanović, L. Kozačinski, Ž. Cvrtila, I. Filipović, K. Leskovar, N. Vragović, D. Budimir (2007): Fermentirane kobasice proizvedene u domaćinstvu-mikrobiološka kakvoća. *Meso* 9, 318-324.
- [25] Zdolec, N. (2017): *Fermented meat products: health aspects*. Boca Raton, USA: CRC Press Taylor & Francis.
- [26] Zdolec, N., M. Čop, V. Dobranić (2017): Primjena *Enterococcus faecalis* 101 iz mlijeka u proizvodnji trajnih kobasica. *Hrvatski veterinarski vjesnik* 25, 1-2, 56-62.
- [27] Zdolec, N., T. Bogdanović, V. Pažin, V. Šimunić-Mežnarić, N. Martinec, J. M. Lorenzo (2020): Control of biogenic amines in dry sausages inoculated with dairy-originated bacteriocinogenic *Enterococcus faecalis* EF-101. *Veterinarski arhiv* 90, 1, 77 - 85.
- [28] Zinina, O., S. Merenkova, A. Soloveva, T. Savostina, E. Sayfulmulyukov, I. Lykasova, A. Mizhevikina (2018): The effect of starter cultures on the qualitative indicators of dry fermented sausages made from poultry meat. *Agronomy Research* 16, 5, 2265 – 2281.
- [29] Yilmaz, O., M. Simsek, M. Isikli (2002): Fatty acid composition and quality characteristics of low-fat cooked sausages made with beef and chicken meat, tomato juice and sunflower oil. *Meat science* 62, 253–258.

Dostavljeno: 14.08.2020

Prihvaćeno: 31.08.2020.

Microbiological and physico-chemical properties of traditional dry-fermented hen meat sausages

Abstract

The aim of present study was to investigate the microbiological and physicochemical properties of a new product - hen meat dry sausages. In the production of sausages, the meat of breasts and thighs of heavy hybride laying hens COBB 500 (n = 150) was used at the end of the laying period at 62-65 weeks of age. Thirty days before slaughter, supplementary cereals were included into the feed mixture. Slaughter was performed in an approved slaughterhouse, while deboning, preparation and ripening of sausage was carried out on family farm from December 2019 to March 2020. The number of aerobic mesophilic bacteria, lactic acid bacteria, enterococci, enterobacteria, yeasts and molds, *Escherichia coli* and the presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* were determined in the raw material, sausage batter and final products. Lactic acid bacteria and enterococci isolates were randomly selected from final products (n = 16) and identified using MALDI-TOF mass spectrometry. Chemically, the water content, water activity, pH, content of salt, ash, fat, protein and hydroxyproline, fatty acid composition and cholesterol were measured. Pathogenic bacteria were not found, while in the final products the number of lactic acid bacteria and enterococci was 7-8 log₁₀ CFU/g and 6 log₁₀ CFU/g, respectively, with the predominant species

Lactobacillus sakei and *Enterococcus faecalis*. The average content of protein, collagen and fat was 46.28 ± 3.14 %, 1.89 ± 0.21 % and 11.15 ± 0.90 %, and cholesterol 98.9 ± 9.93 mg/100g. The content of monounsaturated fatty acids (MUFA) was 52.81%, saturated fatty acids (SFA) 34.82 %, and polyunsaturated fatty acids (PUFA) 12.37 %. The advantages of this product in comparison to standard red-meat dry sausages are related to higher protein content, very low fat content and nutritionally favorable ratio and content of fatty acids.

Key words: hen meat dry sausage, production process, microflora, chemical composition

Mikrobiologische und physikalisch-chemische Eigenschaften autochthoner haltbarer Hühnerfleischwurst

Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der mikrobiologischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften eines neuen Produkts – der haltbaren Hühnerfleischwurst. Zur Wurstherstellung wurden die Brust- und Keulemuskeln von schweren Hybrid-Legehennen COBB 500 (n = 150) am Ende der Legeperiode im Alter von 62-65 Wochen verwendet. Dreißig Tage vor der Schlachtung wurden die Hühner mit einer zusätzlichen Getreidemischung gefüttert. Die Schlachtung erfolgte auf einem zugelassenen Schlachthof, während das Entbeinen, die Zubereitung und die Reifung der Wurst von Dezember 2019 bis März 2020 auf einem Familienbetrieb erfolgten. Die Anzahl der aeroben mesophilen Bakterien, Milchsäurebakterien, Enterokokken, Enterobakterien, Hefen und Schimmelpilze, *Escherichia coli* sowie das Vorhandensein von *Salmonella* spp. und *Listeria monocytogenes* wurden im Rohmaterial, in der Wurstfüllung und in den Endprodukten bestimmt. Die Milchsäurebakterien und Enterokokken-Isole wurden nach dem Zufallsprinzip aus den Endprodukten (n = 16) ausgewählt und mittels der MALDI-TOF-Massenspektrometrie identifiziert. Chemisch wurden der Wassergehalt, die Wasseraktivität, der pH-Wert, der Gehalt an Salz, Asche, Fett, Protein und Hydroxyprolin, die Fettsäurezusammensetzung und das Cholesterin gemessen. Pathogene Bakterien wurden nicht gefunden, während in den Endprodukten die Anzahl der Milchsäurebakterien und Enterokokken $7-8 \log_{10}$ KBE/g bzw. $6 \log_{10}$ KBE/g betrug, wobei die vorherrschenden Spezies *Lactobacillus sakei* und *Enterococcus faecalis* waren. Der durchschnittliche Gehalt an Protein, Kollagen und Fett betrug $46,28 \pm 3,14$ %, $1,89 \pm 0,21$ % und $11,15 \pm 0,90$ %, der Cholesteringehalt $98,9 \pm 9,93$ mg/100g. Der Gehalt an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) betrug 52,81 %, an gesättigten Fettsäuren (SFA) 34,82 % und an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) 12,37 %. Die Vorteile dieses Produkts im Vergleich zu herkömmlichen Rotfleisch-Dauerwürsten liegen in einem höheren Proteingehalt, einem sehr niedrigen Fettgehalt und einem ernährungsphysiologisch günstigen Verhältnis und Gehalt an Fettsäuren.

Schlüsselwörter: Hühnerfleischdauerwurst, Herstellungsverfahren, Mikroflora, chemische Zusammensetzung

Propiedades microbiológicas y fisicoquímicas del chorizo de pollo autóctono

Resumen

El fin de este trabajo fue determinar las propiedades microbiológicas y fisicoquímicas de un producto nuevo - del chorizo de pollo. Para la producción de los chorizos fueron utilizados la pechuga y el contramuslo de gallinas ponedoras de híbridos de razas pesadas COBB 500 (n=150) al final del período

de la puesta a edad de 62 a 65 semanas. Durante 30 días previos a la matanza, las gallinas fueron alimentadas con una mezcla de cereales y matadas en un matadero autorizado. El deshuesado, el embutido y la maduración se realizaron en una granja familiar de diciembre de 2019 a marzo de 2020. Fue determinado el número de bacterias mesófilas aerobias, bacterias del ácido láctico, enterococos, enterobacterias, levaduras y mohos, *Escherichia coli* y la presencia de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* en la materia prima, el embutido y el producto final. Las cepas de bacterias del ácido láctico y enterococos ($n = 16$) al final de la maduración fueron determinadas mediante la espectrometría de masas MALDI-TOF. Químicamente fueron determinados: contenido de agua, actividad de agua, pH, contenido de NaCl, cenizas, grasas proteínicas e hidroxiprolina y la composición de ácidos grasos y colesterol. No fueron identificadas bacterias patógenas, mientras el número de bacterias ácido lácticas y enterococos en el producto final fue $7-8 \log_{10}$ CFU/g, y $6 \log_{10}$ CFU/g, respectivamente, con las especies predominantes *Lactobacillus sakei* y *Enterococcus faecalis*. Las proporciones medias de proteína, colágeno y grasa fueron $46,28 \pm 3,14$ %, $1,89 \pm 0,21$ % y $11,15 \pm 0,90$ % y colesterol $98,9 \pm 9,93$ mg / 100 g. Los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) estuvieron presentes con 52,81 %, los saturados (SFA) con 34,82 % y los poliinsaturados (PUFA) con 12,37 %. Las ventajas del chorizo exclusivamente con carne de pollo elaborado frente a otros tipos de carne se manifiestan en una mayor proporción de proteínas, una proporción muy baja de grasas y un contenido y proporción de ácidos grasos más favorables desde el punto de vista nutricional.

Palabras claves: chorizos de pollo, proceso de producción, microflora, composición química

Proprietà microbiologiche e fisico-chimiche della salsiccia secca autoctona di carne di gallina

Riassunto

Questo studio aveva l'obiettivo di stabilire le proprietà microbiologiche e fisico-chimiche di un nuovo prodotto: la salsiccia secca di carne di gallina. Per produrla ci si è serviti dei muscoli del petto e delle sovracosce delle galline ovaiole di razza ibrida pesante COBB 500 ($n=150$) tra le 62 e le 65 settimane di vita, al termine del periodo di cova. L'alimentazione delle galline, nei 30 giorni che hanno preceduto la loro macellazione (avvenuta in un impianto autorizzato), è stata arricchita con una miscela di cereali. Le operazioni di disosso, la realizzazione del ripieno e la stagionatura sono avvenuti in un'azienda agricola familiare (OPG) dal dicembre 2019 al mese di marzo 2020. Nella materia prima, nel ripieno e nel prodotto finito è stato stabilito il numero di batteri anaerobi mesofili, di batteri dell'acido lattico, di enterococchi, di enterobatteri, di lieviti e di muffe, di *Escherichia coli* e la presenza della *Salmonella* spp. e della *Listeria monocytogenes*. Gli strati di batteri dell'acido lattico e di enterococchi ($n=16$), al termine della stagionatura, sono stati determinati mediante lo spettrometro di massa MALDI-TOF. Dal punto di vista chimico, è stata accertata la percentuale d'acqua, l'attività dell'acqua, il pH, la percentuale di NaCl, di cenere, di grasso, di proteine e d'idrossiprolina, oltre alla composizione degli acidi grassi e del colesterolo. E se non è stata rilevata la presenza di batteri patogeni, nel prodotto finito è stato accertato, invece, un numero di batteri dell'acido lattico e di enterococchi pari a $7-8 \log_{10}$ CFU/g e $6 \log_{10}$ CFU/g, con una prevalenza di *Lactobacillus sakei* e di *Enterococcus faecalis*. L'esame ha evidenziato un tenore medio di proteine, collagene e grassi pari a $46,28 \pm 3,14$ %, $1,89 \pm 0,21$ % e $11,15 \pm 0,90$ %, mentre è stata accertata una quantità media di colesterolo pari a $98,9 \pm 9,93$ mg/100 g. Quanto alla percentuale di acidi grassi, sono stati registrati i seguenti valori: monoinsaturi (MUFA) 52,81 %, saturi (SFA) 34,82 % e poliinsaturi (PUFA) 12,37 %. I vantaggi della salsiccia secca fatta esclusivamente con carne di gallina, rispetto a quelle prodotte con altri tipi di carne, si manifestano nel maggior tenore proteico, in una percentuale molto bassa di grassi, oltre che in un profilo nutrizionale e in un rapporto di acidi grassi più favorevole.

Parole chiave: salsicce secche di carne di gallina, processo produttivo, microflora, composizione chimica