

# Behandlung der Milch mit gepulsten elektrischen Feldern – eine Alternative zur Wärmebehandlung

Pius Eberhard und Robert Sieber

Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Bern

Eingegangen am 29. Dezember 2006, akzeptiert am 22. März 2007

In roher Milch können Verderbniserreger und pathogene Mikroorganismen vorhanden sein. Um diese abzutöten sowie die für unerwünschte Reaktionen verantwortlichen Enzyme zu inaktivieren, wird die Milch verschiedenen Verfahren, vor allem Erhitzungsverfahren, unterworfen. Damit wird erreicht, dass die Haltbarkeit verlängert und die Gesundheit der Konsumenten nicht gefährdet wird. Da es aber bei den traditionellen Wärmebehandlungsverfahren wie Pasteurisierung, Ultrahoherhitzung und Sterilisierung zu teils bedeutenden Veränderungen des Geschmacks, des Aromas und auch der Nährstoffe kommen kann, wurden verschiedene alternative Verfahren evaluiert und sind teilweise zur Anwendung gelangt, die unter der Kategorie der nicht-thermischen oder «kalten», alternativen Erhitzungs- sowie chemischen Verfahren subsummiert werden können (1–5). Auch Kombinationen dieser erwähnten Verfahren untereinander wie auch mit den traditionellen Erhitzungsverfahren in Form der so genannten Hürdentechnologie sind durchaus möglich.

Unter den «kalten» Verfahren, die bei der Verarbeitung von Lebensmitteln eingesetzt werden, existieren bereits kommerziell erhältliche Apparaturen für die Mikrofiltration, gepulste elektrische Felder, Hochdruckbehandlung, gepulstes Hochintensitäts-Licht, Bestrahlung und Baktofugation, während die Anwendung von gepulsten Magnetfeldern und Ultraschall erst auf Labor- oder Pilot-Plant-Stufe bearbeitet wird (2, 5). Unter den Vorteilen dieser Verfahren werden unter anderem eine minimale thermische Belastung mit einem geringen Verlust an Farbe, Flavor, Textur und Inhaltsstoffen sowie haltbare Lebensmittel mit Frischecharakter und erhöhter Lebensmittelsicherheit erwähnt (3).

Der vorliegende Bericht befasst sich mit der Beschreibung sowie den Einsatzmöglichkeiten von gepulsten elektrischen Feldern (PEF)<sup>1</sup> als alternativem Verfahren zur thermischen Milchbehandlung. Der Einsatz dieses Verfahrens bei Lebensmitteln wurde bereits in zahlreichen verschiedenen Übersichten beschrieben, von denen hier nur einige erwähnt werden (9–13). Dieses Forschungsthema wird in der Wissenschaft sehr intensiv bearbeitet und neuere Entwicklungen im Bereich der Anlagentechnik sowie einer ersten kommerziellen Anwendung des Verfahrens sind vorhanden.

## Beschreibung des Verfahrens

Beim PEF-Verfahren wird ein Lebensmittel einem hohen elektrischen Feld (typischerweise 20 bis 80 kV/cm) ausgesetzt. Dabei kommen bei einer Vielzahl von Anwendungen nicht nur zwei, sondern auch drei und mehr Elektrodenysteme zum Einsatz. Dieses Verfahren beschränkt sich vorwiegend auf flüssige Lebensmittel, doch ist auch eine Behandlung fester Lebensmittel möglich, beispielsweise zum Zellaufschluss pflanzlicher und tierischer Zellen (14–16). Eine typische PEF-Anlage besteht aus einer Hochspannungsquelle (erzeugt eine hohe Spannung von mehreren kV) für die Ladung der Kondensatoren und einem Entladungsschalter, der die gespeicherte elektrische Energie von den Kondensatoren in Form eines elektrischen Feldes durch das flüssige Lebensmittel leitet (17). Dieses Feld pulsiert dabei mit Intervallen von Mikro- und Millisekunden. Dabei kann der Prozess statisch oder kontinuierlich durchgeführt werden. Als wichtigste Parameter sind die elektrische Feldintensität ( $E$ ), die Pulsdauer ( $\tau$ ), die Behandlungszeit ( $t$ ), die Temperatur des Lebensmittels ( $T$ ) und der Typ der Mikroorganismen wie auch die Art der Enzyme zu erwähnen. Insgesamt handelt es sich bei PEF um ein nichtthermisches Verfahren, bei dem aber durchaus eine kleine Temperaturerhöhung möglich ist.

## Wirkung von gepulsten elektrischen Feldern auf Mikroorganismen

Die Inaktivierung verschiedener Mikroorganismen durch gepulste elektrische Felder wurde an *E. coli* (18–23), Listerien (24–26), Yersinien (27), Salmonellen (28, 29), Staphylokokken (18) und Bazillen (30–35) untersucht. Neben der elektrischen Feldstärke, der Behandlungszeit, der Pulsbreite und der Frequenz spielen bei der Inaktivierung der Mikroorganismen auch Medium- (Leitfähigkeit, Zusammensetzung, pH- und  $a_w$ -Wert), Umwelt-bedingte (Temperatur) und mikrobielle (Stamm, Wachstumsphase) Parameter eine Rolle. Nach einer PEF-Behandlung bei variierendem pH-Wert, Wasseraktivität und Einlasstemperatur zeigte sich eine unterschiedliche Inaktivierung von *E. coli* und *Saccharomyces cerevisiae* (36). Wird die Einlass-

<sup>1</sup>Im Englischen werden neben pulsed electric field auch die Begriffe high voltage pulsed electric fields (HELP) (6) und high intensity pulsed electric field (HIPEF) (7) verwendet. In diesem Bericht wird nur von gepulsten elektrischen Feldern gesprochen, auch wird im Deutschen der Begriff Hochspannungspulsverfahren verwendet (8).

temperatur um 20 °C erhöht, wird die Inaktivierung<sup>2</sup> um bis zu log 3 erhöht. Ein pH-Wert von 4,0 scheint im Allgemeinen eine höhere Inaktivierung zur Folge zu haben als ein pH-Wert von 7,0, was auch für eine Wasseraktivität von 1,00 gegenüber 0,94 zutrifft (Tabelle 1). Zellen von *L. plantarum* sind in der Wachstumsphase gegenüber einer PEF-Behandlung empfindlicher als in der stationären Phase (37). Bei Rotaviren konnte dagegen keine Reduktion durch eine PEF-Behandlung während 145,6 µs bei 20 bis 29 kV/cm festgestellt werden. Da durch diese Behandlung die Nukleinsäuren intakt bleiben, womit Viren immer noch infektiös wirken können, müssten Viren mit anderen Verfahren inaktiviert werden (38).

Tabelle 1

**Inaktivierung (log-Reduktion) von *E. coli* und *Saccharomyces cerevisiae* in einem Medium bei Einlass-Temperaturen von 10 und 30 °C mit variierendem pH- und  $a_w$ -Wert nach einer PEF-Behandlung in einem Kulturmedium<sup>1</sup> (36)**

	<i>E. coli</i>			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
	$a_w$ 1,00	0,97	0,94	1,00	0,97	0,94
Einlass-Temp. 10 °C						
pH 4,0	3,5	3,0	1,8	1,6	1,2	0,7
pH 5,0	3,4	2,4	1,6	0,6	0,3	0,1
pH 6,0	1,4	0,9	1,3	0,4	1,1	0,3
pH 7,0	0,9	0,6	1,0	0,9	1,1	0,3
Einlass-Temp. 30 °C						
pH 4,0	5,7	3,4	3,9	3,8	2,1	0,4
pH 5,0	4,6	4,1	3,7	1,8	2,5	0,8
pH 6,0	3,6	1,9	2,5	2,1	3,0	2,2
pH 7,0	1,7	1,4	2,1	2,9	2,8	2,1

<sup>1</sup>Die Wasseraktivität des Kulturmediums wurde mit 0, 150 oder 300 g Glycerin pro Liter auf eine solche von 1,00, 0,97 und 0,94 eingestellt.

Der Mechanismus, wie Mikroorganismen durch die Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern inaktiviert werden, ist noch nicht restlos geklärt. Es wird vermutet, dass es sich dabei um eine physikalische Reaktion der Zelle handelt. Die Anwendung von elektrischen Feldern erzeugt ein Transmembranpotenzial an der Zellmembran. Wenn ein ausreichend starkes Potenzial induziert wurde, im Bereich von etwa 1 V, kommt es zum Verlust der Membranstabilität und schliesslich zum dielektrischen Bruch der Membran. Der Zellinhalt tritt aus und die Stoffwechselaktivität versiegt (Abbildung 1). Dass beim Einwirken von gepulsten elektrischen Feldern morphologische Veränderungen bei Mikroorganismen stattfinden, konnten Calderón-Miranda et al. (39) und Dutreux et al. (40) mit Hilfe des Transmissions- oder Raster-Elektronenmikroskops an *Listeria innocua* (39) und *E. coli* (40) zeigen. Wurden *Listeria*-Zellen mit 32 Pulsen und elektrischen Feldintensitäten von 30, 40 und 50 kV/cm behandelt, verlor die Zellwand ihre glatte und gleichförmige

<sup>2</sup>Log-Reduktion =  $\log N/N_0$ , der Einfachheit halber wird im folgenden der Begriff Log-Reduktion beibehalten.

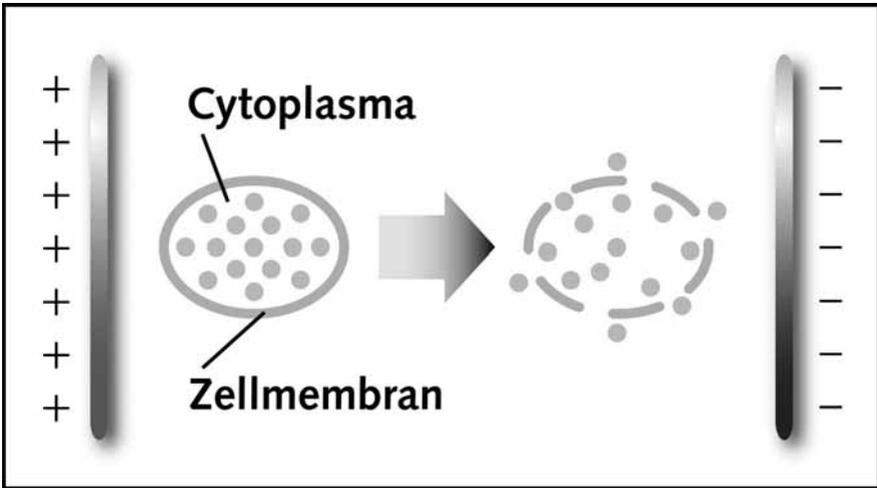


Abbildung 1 Wirkung von gepulsten elektrischen Feldern auf Zellen von Mikroorganismen

Oberfläche. Darüber hinaus wurde auch bei 40 und 50 kV/cm extrazelluläres Material in der Umgebung der Zelle beobachtet, was auf einen Bruch der Zellmembran zurückzuführen ist. Bei *E. coli*-Zellen war die Membran nach der PEF-Behandlung bei 41 kV/cm und 63 Pulsen gestört und rau. Die Inaktivierung dieser beiden Keime ist mit einer veränderten Membranpermeabilität zu erklären, diese scheint ein wichtiger Faktor in der Inaktivierung von Mikroorganismen zu sein (41). Durch die Membranpermeabilisierung steigt die Leitfähigkeit der Membran aufgrund der Poreninduktion an, die Erhöhung der Konduktivität kann als Erfolgsparameter herbeigezogen werden (42). Während *Russell et al.* (43) eine Alles-oder-nichts-Wirkung beobachtet haben, ist in anderen Arbeiten bei *Listeria monocytogenes*, *B. cereus*, *E. coli* und *Salmonella enterica* von subletalen Schädigungen berichtet worden (44–46), bevor die Zellen durch die PEF-Behandlung vollständig inaktiviert wurden. Mit Hilfe des Atomkraft- oder Rasterkraftmikroskops wurden in Magermilch nach der PEF-Behandlung kollabierte und/oder segmentierte Bakterien beobachtet (47).

### Wirkung von gepulsten elektrischen Feldern auf Enzyme

Die Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern auf verschiedene Enzyme wie alkalische Phosphatase (48–50),  $\alpha$ -Amylase (49), Glukoseoxidase (49), Lipase (49, 51), Lysozym (49), Papain (52), Pepsin (49, 53), Peroxidase (49, 50), Polyphenoloxidase (49), Plasmin (54), Protease (55–57) zeigte kontroverse Resultate. Die

Enzyminaktivierung durch die PEF-Behandlung wird nach Yeom und Zhang (58) durch folgende Faktoren bestimmt: elektrische Parameter (elektrische Feldstärke, gesamte Behandlungsdauer oder Anzahl Pulse, Pulsdauer und Pulsbreite), Enzymstruktur, Behandlungstemperatur und Suspensionsmedium. Ein Einfluss der Temperatur auf Enzyme kann ausgeschlossen werden, da die Temperatur durch eine PEF-Behandlung einer Lösung mit niedriger elektrischer Leitfähigkeit und bei einer kurzen Pulsdauer nicht erhöht wird. Als Mechanismus der Enzyminaktivierung werden Änderungen in der Struktur der Enzyme diskutiert (49, 52, 54).

Enzyme reagieren unterschiedlich auf die Behandlung mit gepulsten elektrischen Feldern, wie die Untersuchungen von Ho und Mittal (49) zeigten. Dabei wurden acht verschiedene Enzymlösungen mit einer anfänglichen Spannung zwischen 4 und 26 kV sowie 30 Pulsen mit sofortigem Spannungswechsel behandelt. Der Elektrodenabstand betrug 0,3 cm, die Feldstärke 13 bis 87 kV/cm, die Pulsfrequenz 0,5 Hz und die Pulsdauer 2  $\mu$ s. Bei einer Behandlungstemperatur von 20 °C und einer Spannung von 26 kV reduzierte sich die Enzymaktivität der Lipase, der Glukoseoxidase und der hitzestabilen  $\alpha$ -Amylase um 70 bis 85 %, der Peroxidase und der Polyphenoloxidase um 30 bis 40 % und der alkalischen Phosphatase nur um 5 %. Dagegen sank die Enzymaktivität des Lysozyms bei einer Spannung von 4 und bei 22 kV auf unter 50 %, während sie sich bei 15 kV nur um weniger als 20 % reduzierte und beim Pepsin gar erhöhte.

### **Anwendung auf Lebensmittel allgemein**

Zu den verschiedenen Lebensmitteln, bei denen bereits in verschiedenen Forschungsarbeiten über die Anwendung der gepulsten elektrischen Felder berichtet wird, zählen Fruchtsäfte (59, 60) wie Apfelsaft (61, 62), Orangensaft (50, 63–67), Preiselbeerensaft (68), Gewürze (69) sowie Eier (70–73) und die Milch (siehe unten). In Frage kommen noch weitere Lebensmittel wie Tomatenkonzentrat, Ketchup, Fruchtpüree, Mayonnaise, Spaghettisauce, Konfitüren, Joghurt, leicht alkoholhaltige Getränke, Wein, Suppen oder Gemüsejus, Honig (74). Neben der Inaktivierung von Mikroorganismen wird PEF auch als Zellaufschlussverfahren wie zur Fruchtsaftgewinnung, Zuckerextraktion, Trocknung pflanzlicher Produkte u.a. angewendet (16, 75–77). In den USA ist seit Ende 2005 das PEF-Verfahren zur Haltbarmachung von Bio-Fruchtsaft im Einsatz (78). Die Food Drug Administration (FDA) hat den Verkauf dieser Produkte freigegeben (5), nachdem sie bereits im Jahre 1995 einen letter of no objection für dieses Verfahren herausgegeben hat (zitiert nach 79).

### **Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern auf Milch und Milchprodukte**

Die ersten Anwendungen mit elektrischen Feldern auf Milch gehen auf den Anfang des letzten Jahrhunderts zurück. Eine Anlage, um Milch mit elektrischem Strom zu verarbeiten, wurde von *Beattie* (80) sowie *Beattie und Lewis* (81) entwickelt. Mit 3 bis 4 kV konnte eine letale Wirkung auf Mikroorganismen gezeigt wer-

den, indem dabei die Temperatur der Milch erhöht wurde. Es handelte sich also um ein thermisches Verfahren, bei dem die Milch elektrisch auf 71 °C erhitzt wurde. Eine weitere Anwendung der Elektrizität zur Pasteurisierung von Milch war das «ElectroPure» Verfahren (82). 1935 hat sodann *Getchell* (83) eine elektrische Pasteurisationsanlage für Milch beschrieben, mit der über einen einfachen, flexiblen, ökonomischen, schnellen und zuverlässigen Arbeitsvorgang Milch vor dem Verderb geschützt werden kann.

Die erste Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern in der Lebensmittelverarbeitung wurde erstmals in den 60er Jahren an pflanzlichen Zellen und Mikroorganismen (84–86) beschrieben. Die Milch als Forschungsobjekt für gepulste elektrische Felder tauchte erstmals 1987 in einem Patent von *Dunn und Pearlman* (87) auf. Die Unfähigkeit jedoch, eine Anlage mit einer Vorrichtung zu entwickeln, welche die Temperatur der Milch kontrollieren kann, und die fehlenden Möglichkeiten, grosse Milchmengen zu behandeln, waren nach *Barbosa-Cánovas et al.* (88) die Punkte, welche die Weiterentwicklung dieses Verfahrens lange Zeit behinderten. Inzwischen haben intensive Forschungsanstrengungen Fortschritte auf diesem Gebiete gebracht (79, 89).

## Mikroorganismen

Verschiedene Arbeiten mit Milch als flüssigem Medium wurden bereits unternommen, um den Einfluss einer Behandlung mit gepulsten elektrischen Feldern auf die Abtötung verschiedener einzelner Mikroorganismen abzuklären. Dabei wurde von Magermilch, Vollmilch, UHT-Milch und von simuliertem Milchultrafiltrat ausgegangen, die mit den zu untersuchenden Mikroorganismen inokuliert wurden. Neben der Abtötung der nativen Flora (90–93) kamen als Mikroorganismen *Bacillus (B.) subtilis* (94), *L. brevis* (50), *L. delbrueckii* (94), *L. rhamnosus* (79), *Pseudomonas (Ps.) fluorescens* (79, 91, 95–97) und *Saccharomyces cerevisiae* (19) (Tabelle 2) sowie als pathogene *B. cereus* (91), *E. coli* (19, 40, 79, 87, 98–103), Listerien (häufig wird in diesen Studien *Listeria innocua* als Ersatz des pathogenen *Listeria monocytogenes* verwendet) (40, 47, 95, 97, 104, 105), *Mycobacterium paratuberculosis* (106), Salmonellen (107–109) und *Staphylococcus aureus* (110–112) (Tabelle 3)<sup>3</sup> zur Anwendung. Der Abtötungsgrad schwankte dabei in Abhängigkeit von den verwendeten Bakterien, der elektrischen Feldstärke, der Behandlungszeit, der Pulsdauer und der maximalen Temperatur des Mediums zwischen 0,2 und knapp 6 Log-Einheiten (Tabellen 2 und 3). So erreichten beispielsweise *Dutreux et al.* (40) in Magermilch mit 63 Pulsen bei *E. coli* eine Reduktion um 6 bis 7 und bei *Listeria innocua* um 4 Log-Einheiten. Bei einer kumulierten Behandlungszeit von mehr als

<sup>3</sup>Die beiden Tabellen 2 und 3 beschränken sich auf Resultate, die in wissenschaftlichen Zeitschriften allgemein zugänglich sind. Daneben existieren noch weitere Resultate zur PEF-Behandlung von Milch und Milchprodukten in Abstracts von Tagungen und anderen, schwer zugänglichen Berichten (siehe dazu 12).

Tabelle 2  
**Überblick über die letalen Wirkungen von gepulsten elektrischen Feldern auf verschiedene Mikroorganismen in Milch**

Mikroorganismus	K <sup>1</sup>	Produkt <sup>2</sup>	E (kV/cm)	Pulse	t (µs)	τ (µs)	T (°C)	Wirkung <sup>3</sup> (Dez. red.)	Lit.
Mikroorganismen		MM	80	50			52	1,3	(90)
Mikroorganismen	k	MM roh	35	64	188		52	1,0	(91)
<i>B. subtilis</i>		SMUF	16	50	200-300			4-5	(94)
<i>L. brevis</i>	s	UHT	22		300	15	45-50	6	(50)
<i>L. delbrueckii</i>		SMUF			200-300	40		4-5	(94)
<i>L. lactis</i>	k	MM-UHT	35	64	188		52	0,3	(91)
<i>L. rhamnosus</i>		M	21,6/32,5				40	5/5	(79)
<i>Ps. fluorescens</i>	s	UHT	22		300	15	45-50	4,2	(50)
<i>Ps. fluorescens</i>		MM roh	50	50	2			2,6	(95)
<i>Ps. fluorescens</i>	k	MM-UHT	35	64	188		52	2,2	(91)
<i>Ps. fluorescens</i>	k	MM steril.	31/33/34/36/37/38	10/20/30		2	16/20	1,0-1,9	(96)
<i>Ps. fluorescens</i>		M	21,6				40	5	(79)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		SMUF	25		400	20	8	3,5	(19)

E = elektrische Feldstärke, t = Behandlungszeit, τ = Pulsdauer, T = maximale Temperatur des Mediums

<sup>1</sup>Typ der Kammer; s = statisch; k = kontinuierlich

<sup>2</sup>SMUF = sterilisiertes Magermilchultrafiltrat, MM = Magermilch

<sup>3</sup>angegeben als Dezimalreduktion

Tabelle 3

## Überblick über die letalen Wirkungen von gepulsten elektrischen Feldern auf pathogene Mikroorganismen in Milch

MO	K <sup>1</sup>	Produkt <sup>2</sup>	E <sup>3</sup> (kV/cm)	Pulse	t <sup>3</sup> (µs)	τ <sup>3</sup> (µs)	T <sup>3</sup> (°C)	Wirkung <sup>4</sup> (Dezimalred.)	Lit.
Coliforme und Aerobe	k	M roh	35	30	300	15	<30	0,19–1,18	(50)
<i>B. cereus</i> -Sporen	s	UHT	22,4				45–50	0	(100)
<i>B. cereus</i>	s	MM verdünnt	20	30		2	>30	1,2	(98)
<i>B. cereus</i>	k	MM UHT	35	64	188		52	3	(98)
<i>Byssochlamys nivea</i> -Sporen	s	UHT	22,4		300	15	45–50	0,2	(40)
<i>Cl. tyrobutyricum</i> -Sporen	s	UHT	22,4		300	15	45–50	0,2	(102)
<i>E. coli</i>	M	M	43	35		–	43	3	(103)
<i>E. coli</i>	SMUF	SMUF	70	8		2	20/33	2,5/2,5	(79)
<i>E. coli</i>	SMUF	SMUF	25		400	20	8	3	(79)
<i>E. coli</i>	s	UHT 1,5 % F.	22		300	15	45–50	>4	(101)
<i>E. coli</i>	s	SMUF	36	64		2	7/20	4/5	(104)
<i>E. coli</i>	s	MM	45	64			15	3	(40)
<i>E. coli</i>	k	MM	25	25		1,8		>2	(47)
<i>E. coli</i>	k	MM	41	10/20/35/63		2,5	37	2,3/2,9/3,4/4,0	(47)
<i>E. coli</i>	k	SMUF	12,5	1, 3, 5				2,6	(47)
<i>E. coli</i> O157:H7	k	MM	24		141	20		2,0	(105)
<i>E. coli</i>	s	MM/VM roh	21,6				40	5	(105)
<i>E. coli</i>	s	MM/VM roh	23				35	7	(105)
<i>E. coli</i>	s	Orangensaft-Milchgetränk	15		700	2,5	55	3,8	(106)
<i>Listeria innocua</i>	k	MM	30/40/50	32		2	22/28/34	1,9/2,1/2,5	(106)
<i>Listeria innocua</i>	k	MM	41	10/20/35/63		2,5	37	0,7/1,5/2,3/3,9	(87)
<i>Listeria innocua</i>	s	MM UHT	28–29	1,1/100 Hz	250			0,95/1,25	(107)
<i>Listeria innocua</i>	s	VM UHT	28–29	1,1/100 Hz	250			0,7/1,5–2	(108)
<i>Listeria innocua</i>	s	Rahm 20 % F.	29/38	1,1/100 Hz	250			1/2	(109)
<i>Listeria monocytogenes</i>	k	VM, 2 % F., MM	30		600	1,5	25	≈3	(110)
<i>Listeria monocytogenes</i>	k	VM	25/35		600	1,5		1,5/2,5	(111)
<i>Listeria monocytogenes</i>	k	VM	30		600	1,5	10/	3/2/3/3/4	(112)
							25/30/43/50		

MO	K <sup>1</sup>	Produkt <sup>2</sup>	E <sup>3</sup> (kV/cm)	Pulse	t <sup>3</sup> (µs)	τ <sup>3</sup> (µs)	T <sup>3</sup> (°C)	Wirkung <sup>4</sup> (Dezimalred.)	Lit.
Mycobacterium paratuberculosis ATCC 19698	s	SM	30	2500			50	5,6	(48)
Mycobacterium paratuberculosis ATCC 43105	s	SM	30	2500			50	5,9	(48)
Salmonella dublin	k	MM-UHT	36,7	40			63	4	(50)
Salmonella dublin	k	MM-UHT	25		100	1	50	2	(113)
Salmonella enteritidis	k	MM roh	45/55	40-120 Hz			<50	0,2-1,4	(113)
Salmonella enteritidis	k	MM-UHT	47	60 Hz		0,5		1,2	(50)
Staphylococcus aureus	s/k	MM	35	250 Hz	450	3,7	<40	3,0/3,7	(51)
Staphylococcus aureus	SM	SM	35	100 Hz	240/2400	4		0,3/1,0	(115)
Staphylococcus aureus	MM	MM	25/35	50/150		4/8		0/4,5	(50)

<sup>1</sup>Typ der Kammer; s=statisch; k=kontinuierlich

<sup>2</sup>F = Fett; M = Milch; MM = Magermilch; SM = sterilisierte Milch; SMUF = simuliertes Magermilchultrafiltrat; VM = Vollmilch

<sup>3</sup>E = elektrische Feldstärke; t = Behandlungszeit; τ = Pulsdauer; T = maximale Temperatur des Mediums

<sup>4</sup>anggegeben als Dezimalreduktion

300  $\mu$ s erzielten Picart et al. (47) mit *Listeria innocua* in Vollmilch eine Reduktion um 2,5 und bei 100  $\mu$ s um 0,5 Log-Einheiten. Eine Pulsdauer von 20  $\mu$ s zeigte in Magermilch eine signifikant stärkere Inaktivierung von *E. coli* als eine solche von 3, 5, 80, 200, 50, 1000 oder 1430  $\mu$ s, was ebenso für die Verwendung von bipolaren gegenüber monopolaren (1,96 vs 1,27 log kbE/ml) Pulsen zutrifft (103). Auch scheinen in Magermilch gram-positive Bakterien wie *Listeria innocua* widerstandsfähiger gegenüber einer PEF-Behandlung zu sein als gram-negative wie *Ps. fluorescens* (97).

Sobrino-Lopez et al. (111) haben in Milch die PEF-Variablen studiert, die zu der Inaktivierung von *Staphylococcus aureus* beitragen. Dabei beeinflussten Polarität, Anzahl Pulse, Pulsbreite, elektrische Feldstärke und die Kombination Anzahl Pulse mit der Pulsbreite oder der elektrischen Feldstärke die Inaktivierung, wobei diese mit einer Gleichung zweiter Ordnung beschrieben werden kann. Der Fettgehalt der Milch spielte dabei keine Rolle.

Eine Pasteurisierung von inokulierter UHT-Milch (73 °C, 30 s) reduzierte die Anzahl von *Ps. fluorescens*, *Lc. lactis* und *B. cereus* um 4,0, 4,8 bzw. 2,9 Log-Einheiten und war damit bei den ersten beiden Keimen wirkungsvoller und beim dritten vergleichbar wie nach der PEF-Behandlung, während der die Temperatur auf 52 °C anstieg (91).

## Enzyme

Zur Beurteilung von Erhitzungsverfahren werden verschiedene Enzyme wie alkalische Phosphatase (50, 113), Lipase (50, 51), Peroxidase (50, 79, 113), Plasmin (54) und Protease (17, 57, 56,) in der Milch als empfindliche Parameter herbeigezogen (Tabelle 4). In mit PEF-behandelter Milch zeigten die alkalische Phosphatase in einem Falle wie auch die Peroxidase nur geringe Verluste, jedoch die Lipase mehr als 60% (50). In einer anderen Studie (114) war jedoch die Inaktivierung der alkalischen Phosphatase recht deutlich. Neben diesen beiden Enzymen wurde noch der Einfluss von PEF auf andere Enzyme untersucht (Tabelle 4). Die Aktivität von Plasmin, einem relativ hitzestabilen Enzym, das zu simuliertem Milchultrafiltrat in einer Konzentration von 100  $\mu$ g/ml gegeben wurde, reduzierte sich nach der Behandlung in einem gepulsten elektrischen Feld von 30 und 45 kV/cm und bei 50 Pulsen um 90% (54). Daraus muss geschlossen werden, dass es sich dabei um eine nichtthermische Wirkung handelt. Eine extrazelluläre Lipase aus *Ps. fluorescens* wurde in ein simuliertes Magermilchultrafiltrat gegeben und verschiedenen Behandlungsbedingungen von Erhitzung und hoch intensiv gepulsten elektrischen Feldern unterworfen. Dabei ergab sich im Batchmodus bei 80 Pulsen und bei einer elektrischen Feldintensität von 27,4 kV/cm eine maximale Lipasehemmung von 62%, während im kontinuierlichen Verfahren bei 3,5 Hz und 80 Pulsen bei 37,3 kV/cm nur eine Inaktivierung von 13% erreicht werden konnte. Im Vergleich dazu betrug der Inaktivierungsgrad bei der Pasteurisation von 63 °C während 30 Minuten 20% und von 75 °C während 15 s 5% (51). Nach den Untersuchungen von Soliva-Fortuny et al. (115) zur Inaktivierungskinetik einer Lipase von *Ps. fluorescens* ist die Inaktivierung der Enzyme von der Feldstärke und von der Behandlungszeit abhängig.

**Tabelle 4**  
**Einfluss von gepulsten elektrischen Feldern auf Enzyme in der Milch**

Enzym	<i>K</i> <sup>1</sup>	Lösung <sup>2</sup>	<i>E</i> <sup>3</sup> (kV/cm)	Pulse	<i>t</i> <sup>3</sup> ( $\mu$ s)	$\tau$ <sup>3</sup> ( $\mu$ s)	Inaktivierung (%)	Lit.	
Alkalische Phosphatase	k	SMUF	22	70		0,74	65	(79)	
	s	RM	18,8	70		0,4	59	(113)	
	s	RM	21,5	1–22			<5	(54)	
	s	RM	6,7–20	200		2	0	(17)	
	s	RM	10	200		40	74	(57)	
Lipase		RM	21,5	1–22			65	(56)	
	( <i>Ps. fluorescens</i> ) s, k	SMUF	27,4/37,3	80/80			62/13	(56)	
	( <i>Ps. fluorescens</i> )	SMUF	27,4		314,5		62	(127)	
Peroxidase	k	RM	21,5	20			25	(6)	
	s	RM	20,6				≈10	(6)	
		RM	19	100		5	0	(6)	
Plasmin	k	SMUF	30, 45	50		2	90	(7)	
Protease ( <i>Ps. fluorescens</i> )	k	MM	15	98		2	60	(8)	
	( <i>B. subtilis</i> )	SMUF	35,5	111 Hz			63	(12)	
	( <i>B. subtilis</i> )	k	MM	35,5	111 Hz		7	81	(12)
	( <i>B. subtilis</i> )	k	VM	35,5	111 Hz		7	57	(12)

<sup>1</sup> Typ der Kammer: s=statisch; k=kontinuierlich

<sup>2</sup> RM=Rohmilch; VM= Vollmilch; MM=Magermilch; SMUF=simuliertes Magermilchultrafiltrat

<sup>3</sup> E=elektrische Feldstärke,  $\tau$ =Pulsdauer, t=Behandlungszeit

Der Einfluss verschiedener PEF-Parameter auf die Enzymaktivität wurde mit einer Protease, die von *B. subtilis* stammte und in Milch inokuliert wurde, untersucht (56). Die Pulsdauer (4 und 7  $\mu$ s) hatte keinen Einfluss auf die Proteaseaktivität, jedoch sank letztere linear mit erhöhter Behandlungszeit, Pulsfrequenz oder steigender Feldstärke. Bei den verwendeten Feldstärken unterschieden sich 19,7, 23,7 und 27,6 kV/cm nicht voneinander, wohl aber 31,6 und 35,5 kV/cm. Bei letzterer Feldstärke betrug die höchste Inaktivierung nach einer Behandlungszeit von 866  $\mu$ s bei 67 Hz 37,9%. Mit steigender Pulsfrequenz (67, 89 und 111 Hz) erhöhte sich bei gleicher Feldstärke von 35,5 kV/cm die Inaktivierung: war sie bei 67 Hz in Magermilch und Vollmilch mit 37,9% nicht verschieden, betrug sie bei 111 Hz 81,1 und 57,1%. Es scheint, dass dabei das Fett die Struktur des Enzyms stabiler macht (47).

Im Gegensatz zur Pasteurisation, bei der alkalische Phosphatase und Peroxydase als Indikatoren einer thermischen Behandlung herbeigezogen werden, hat sich noch kein Enzym als Indikator zur Beurteilung der PEF-Behandlung von Milch aufgedrängt.

## Milchinhaltstoffe

Auch bei alternativen nichtthermischen Verfahren sind deren Auswirkungen auf die Inhaltsstoffe eines Lebensmittels, insbesondere auf Proteine und Vitamine, von Interesse.  $\beta$ -Laktoglobulin, behandelt in einem elektrischen Feld von 12,5 kV/cm mit bis zu 10 Pulsen und einer Zeit von 15 s, wurde bis zu 40% denaturiert. Doch

wurde die Mikrostruktur der Gele nur wenig beeinflusst (116). Dagegen zeigte dieses Protein in Phosphatpuffer nach einer PEF-Behandlung in einem elektrischen Feld von bis zu 30 kV/cm keine Entfaltung und aus indirekten Hinweisen mit dialysierter  $\beta$ -Laktoglobulinlösung wurde geschlossen, dass dieses Protein durch PEF nicht aggregiert (6). Molkenproteine zeigten praktisch keine oder nur geringe Verluste (50). Nach *Odrizola-Serrano et al.* (117) war der Gehalt der Molkenproteine Serumalbumin,  $\beta$ -Laktoglobulin und  $\alpha$ -Laktalbumin in hoch-intensiv PEF-behandelter Milch vergleichbar mit den Werten für normal pasteurisierte Milch.

Nach *Grahl und Märkl* (50) betrug in Rohmilch, die mit PEF bei einem Energie-Input von 0 bis 400 kJ/l behandelt wurde, das maximale Ausmass der Verluste beim oxidationsempfindlichen Vitamin C 90%. Dagegen zeigte Vitamin A praktisch keine oder nur geringe Verluste. *Bendicho et al.* (118) unterwarfen Milch und simuliertes Magermilchultrafiltrat bei einer Feldstärke von 18,3, 22,6 und 27,1 kV/cm einer Behandlungszeit von bis zu 400  $\mu$ s. Bei Riboflavin, Thiamin, Cholecalciferol und Tocopherol ergaben sich keine Verluste. Bei der Ascorbinsäure waren in der Magermilch die Verluste geringer als 28% und im simulierten Milchultrafiltrat 39%. Nach einer Behandlungszeit von 400  $\mu$ s bei 22,6 kV/cm betrug die Verluste 6,6% und waren tiefer als nach einer üblichen Pasteurisation (63°C 30 min: 50,3%; 75°C 15 s: 13,3%). In Magermilch zeigten sich geringere Ascorbinsäureverluste als im simulierten Milchultrafiltrat, was mit einer schützenden Rolle des Kaseins erklärt wird.

Sensorische Tests zeigten keine signifikante Veränderung des Geschmacks von Milch, die mit dem PEF-Verfahren behandelt wurde (50).

Aufgrund dieser Befunde an Molkenproteinen und Vitaminen sowie den Resultaten der sensorischen Tests kann das PEF-Verfahren in Bezug auf die Inhaltsstoffe der Milch als schonend bezeichnet werden.

## Milchprodukte

Joghurt wurde mit Fruchtmarmelade und Zuckersaft vermischt, mit milder Hitze (60°C, 30 s) und anschliessend mit PEF (30 kV/cm, 32  $\mu$ s gesamte Behandlungszeit) behandelt und bei 4 und 22°C gelagert. Mit diesem Behandlungsverfahren konnte eine Reduktion um log 2 bei den aeroben Bakterien sowie bei den Hefen und Schimmeln erreicht werden. Nach einer Lagerung bei 4°C während 90 Tagen wurden im PEF-behandelten Produkt von den Bakterien 1,2 und von den Hefen 0,4 log kbE/ml nachgewiesen. Bei der Hitzebehandlung allein resultierten dabei 7,5 bzw. 4,4 log kbE/ml, während in der Kontrolle 7,4 bzw. 4,2 log kbE/ml vorhanden waren. In Aussehen, Farbe, Textur, Flavor und Akzeptanz unterschieden sich die PEF-behandelten Produkte nicht signifikant von der Kontrolle (119).

PEF-behandelte Milch wurde zur Herstellung von Cheddar-Käse eingesetzt. Dabei zeigte ein daraus hergestellter Käse eine erhöhte Festigkeit und Rückverformbarkeit sowie veränderte sensorische Eigenschaften im Vergleich zu einem aus unbehandelter Milch, während Adhäsion und Kohäsion nicht beeinflusst wurden (120).

## Kombination der PEF-Behandlung der Milch mit konventionellen Erhitzungsverfahren

Das PEF-Verfahren kann mit milder Hitze kombiniert werden und zwar auch gleichzeitig. Dies konnte an *E. coli* O157:H7 (121), an *E. coli* O157:H7 und *Salmonella enteritidis* in flüssigem Eigelb (122) und bei der Pasteurisierung von Apfelsaft (123) gezeigt werden. Dabei wurde insbesondere die Energieeffizienz des Verfahrens gesteigert. Auch können beide Verfahren kontinuierlich genutzt werden, insbesondere da auch bei der PEF-Anwendung eine geringe Erwärmung auftritt.

Mit der Kombination der PEF-Behandlung mit einem konventionellen Erhitzungsverfahren wie der Pasteurisierung wird eine verlängerte Haltbarkeit der Milch erreicht. In einer bei 72 °C während 15 s pasteurisierten Milch stieg die Anzahl von mesophilen Bakterien nach 44 Tagen auf den vorgegebenen Grenzwert von 10<sup>4</sup> pro ml an. Wurde die pasteurisierte Milch am gleichen Tag oder 8 Tage später noch mit PEF bei einer maximalen Feldstärke von 35 kV/cm behandelt, so wurde diese Grenze im ersten Falle nach 60 Tagen und im zweiten Falle nach 78 Tagen erreicht. Nach 60 Tagen Lagerung bei 4 °C wurden verschiedene thermoresistente psychrotrophe Bakterien wie *Bacillus* spp. (nicht *B. cereus*), *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Microbacterium* spp., *Listeria* spp. (nicht aber *Listeria monocytogenes*) nachgewiesen (124). Wurde rohe Magermilch mit PEF bei 10, 20 oder 30 Pulsen behandelt, so wurde nach 14 Tagen Lagerung 7,2, 6,5 und 6,3 log kbE/ml gegenüber 7,6 log kbE/ml in der unbehandelten Milch gefunden. Wurde nun eine thermische Behandlung bei 73 oder 80 °C für 6 s vorgeschaltet, so lag nach 22 und 30 Tagen Lagerung bei 4 °C die Keimzahl bei 4,1 und 4,9 log kbE/ml (93). Die gleiche Arbeitsgruppe (92) unterwarf Magermilch nach der PEF-Behandlung bei 28, 32 und 36 kV/cm noch Erhitzungstemperaturen von 60 und 65 °C während 21 s. Dadurch erniedrigte sich die Gesamtkeimzahl zusätzlich um bis zu 1,5 Log-Einheiten. Eine PEF-Behandlung von mit *Salmonella enteritidis*-inokulierter UHT-Magermilch bei 47 kV/cm und einer nachfolgenden konventionellen Erhitzung bei 62 °C während 19 s führte zu einer Reduktion von 2,3 ± 0,4 log im Vergleich zu 1,2 ± 0,3 log nach der PEF-Behandlung (104). Auch bei Schokolademilch konnte mit der Kombination von PEF und nachfolgender Erhitzung auf 105 oder 112 °C die Haltbarkeit verlängert werden (125).

## Kombination der PEF-Behandlung der Milch mit Nisin

Der Kombination von PEF mit anderen Verfahren kann zu einer weiteren Inaktivierung führen. Verminderte eine PEF-Behandlung von Magermilch bei 52 °C mit 80 kV/cm und 50 Pulsen die Anzahl der Mikroorganismen (Ausgangsgehalt 10<sup>7</sup> bis 10<sup>8</sup> kbE/ml) nur um 1,3 log, erhöhte sich bei einer gleichzeitigen Verwendung von Lysozym, Nisin oder einem Gemisch von Lysozym und Nisin die Reduktion auf 3,2, 5,7 und 7,0 log (90). In einer weiteren Studie wurde *Listeria innocua* in Magermilch (ungefähr 2,7 × 10<sup>7</sup> kbE/ml) mit PEF (50 kV/cm, 32 Pulse und Temperatur 34 °C) und Nisin behandelt. Mit PEF allein wurde eine Reduktion von log 2,4 und

mit PEF und Nisin (10 oder 100 IU/ml) eine solche von log 3,4 und 3,8 erreicht, während sie mit Nisin allein (log 0,25 und 0,7) deutlich geringer ausfiel (104). Zu ähnlichen Resultaten kamen auch *Pol et al.* (126) mit *B. cereus* in verdünnter Milch: mit PEF allein eine Reduktion um etwa log 1,2 und mit PEF und Nisin eine solche um etwa log 2,7. Dagegen reduzierte die Kombination von PEF mit Essig- oder Propionsäure bei Feldintensitäten von 31 bis 38 kV/cm und einer Behandlungstemperatur von 16 und 20 °C die Anzahl von *Ps. fluorescens* nicht im Vergleich zur alleinigen Anwendung von PEF (96). Auch die Reihenfolge der Nisin-Zugabe vor, gleichzeitig oder nach der PEF-Behandlung von flüssigem Molkenprotein-konzentrat beeinflusste die Inaktivierungsrate von *Listeria innocua* unterschiedlich. Wurde Nisin vor der PEF-Behandlung zugegeben, wurde die grösste Wirkung erreicht (Tabelle 5). Erklärt wird dies dadurch, dass durch dieses Vorgehen Nisin-empfindliche Mikroorganismen durch die PEF-Behandlung stärker in Mitleidenschaft gezogen werden (127). Bei Nisin-unempfindlichen Mikroorganismen wie *E. coli* konnte ein solches Verhalten in simuliertem Milchultrafiltrat nicht beobachtet werden (102).

**Tabelle 5**  
**Einfluss der Nisin-Zugabe auf *Listeria innocua* in PEF-behandeltem Molkenprotein-konzentrat (127)**

<i>Nisinkonzentration</i> IU/ml	<i>Nisin</i> <i>allein</i>	<i>Nisin</i> <i>vor</i>	<i>Nisin gleichzeitig mit</i> <i>PEF-Behandlung</i> - <i>Log (N/N<sub>0</sub>)</i>	<i>Nisin</i> <i>nach</i>	<i>PEF</i> <i>allein</i>
25	1,4	3,8	2,1	1,2	1,0
50	3,5	4,3	3,3	2,5	1,0

$N_0 = 2 \times 10^8$  kbE/ml

Wurde in simuliertem Milchultrafiltrat die Wasseraktivität auf 0,95 abgesenkt, darauf dieses Produkt einer PEF-Behandlung von 5 kV/cm unterworfen und Nisin in einer Menge von 1200 IU/ml hinzugefügt, wurde *E. coli* um 5 Log-Einheiten reduziert (99).

### Sicherheitsüberlegungen

Bevor ein neues Verfahren in die Lebensmitteltechnologie eingeführt werden kann, muss Klarheit darüber bestehen, dass das behandelte Lebensmittel in mikrobiologischer und toxikologischer Hinsicht sicher ist. Dabei können die Richtlinien der International Commission on Microbiological Specifications on Foods (siehe dazu 128) wie auch die Ausführungen des amerikanischen National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (129) behilflich sein. In letzterem Dokument geht es um folgende Fragen: Welche Kriterien sind für die Beurteilung neuer Verfahren notwendig, welches ist aus Sicht der öffentlichen Gesundheit der für jedes Verfahren resistenteste Mikroorganismus und welche Daten sind erforderlich, um die Adäquanz der in Frage kommenden Technologie beurteilen zu können?

Mikroorganismen sind gegenüber einer PEF-Behandlung unterschiedlich empfindlich. Für ein sicheres Endprodukt müssen noch andere Verfahren zur Anwendung gelangen. Als weitere Fragen sind noch eingehend abzuklären, ob beispielsweise die bei der PEF-Behandlung freigesetzten Zellkomponenten sicher für den Verbraucher sind (130) oder ob die Korrosion der Elektroden zu einer Verunreinigung des Endproduktes führen kann (79, 131–133). Jedenfalls wies ein Traubensaft, der in Tris-Puffer und in Gegenwart von Cl<sup>-</sup>-Ionen PEF-behandelt wurde, im Ames-Mutagenitätstest eine mutagene Wirkung auf, was noch zu weiteren Abklärungen Anlass geben sollte (130). Was das Thema der Korrosion betrifft, fällt nach verschiedenen Arbeiten bei einer Anwendung geeigneter Schalttechnik und Impulsformen der Abtrag der Elemente Eisen, Chrom, Nickel und Mangan des Elektrodenmaterials so gering aus, dass die Werte der EU-Trinkwasserverordnung und anderer Vorschriften nicht überschritten werden (131–133). Dabei wurde nur Eisen, nicht aber die anderen drei Elemente, bei einer PEF-Behandlung von Kochsalz (durchschnittlich 6,7 Pulse entsprechend ~1 µs) in einer Konzentration von ungefähr 0,23 µg/l von der Elektrode gelöst (132).

Für pasteurisierte Milch oder für Verfahren, die Temperatur-Zeit-Relationen mit gleicher Wirkung aufweisen, wird vom Gesetzgeber (134) verlangt, dass der Phosphatetest negativ und der Peroxydasetest positiv ist. Diese sind Indikatoren dafür, dass die Milch frei von pathogenen Keimen ist bzw. nicht übermässig erhitzt wurde. Bei der PEF-Behandlung von Rohmilch wurde die Enzymaktivität der alkalischen Phosphatase je nach Bedingungen zwischen 0 und 74 % reduziert, die Peroxidase ist noch aktiv (Tabelle 4).

Für kaltpasteurisierte Milch müssen also neue Kriterien herangezogen werden. Beim PEF-Verfahren kann nicht ein einfacher Verfahrensparameter wie bei der konventionellen Pasteurisation (Zeit/Temperatur) benutzt werden. Die Einsatzbedingungen sind sehr komplex (Stromstärke, Pulsfrequenz und -dauer, Art und Abstand der Elektrode usw.). Um die Sicherheit des Verfahrens zu gewährleisten, müssen direkte mikrobiologische Abtötungsraten oder alternative indirekte Indikatoren evaluiert werden.

Die PEF-Behandlung von Orangensaft führte bei 20 Versuchspersonen zu einer vergleichbaren Bioverfügbarkeit von Vitamin C wie der Verzehr von frisch ausgepresstem Orangensaft. So war in beiden Fällen die Vitamin-C-Konzentration im Plasma deutlich erhöht und diejenige des 8-Isoprostans als Biomarker für die Lipidperoxidation deutlich erniedrigt (135). In Bezug auf die Sicherheit sind nach *Lelieveld et al.* (136) vor der Anwendung dieses Verfahrens noch weitere Forschungsarbeiten erforderlich. Denn in einem Vergleich zwischen PEF- und hitzebehandeltem Tomatenpüree waren nach hochauflösendem ein- und zweidimensionalen Proton-NMR-Fingerprinting 600 von 2000 Peaks verschieden, was die Frage nach deren toxikologischer und/oder ernährungsphysiologischer Relevanz nach sich zieht und was zu weiteren Forschungsanstrengungen Anlass gibt.

## Erwartungen der Konsumenten gegenüber der Behandlung von Lebensmitteln mit gepulsten elektrischen Feldern

Konsumentinnen und Konsumenten erwarten von der lebensmittelverarbeitenden Industrie Lebensmittel mit einer hohen Qualität. Dabei sollen diese einem schonenden Herstellungsverfahren unterworfen werden, so dass ein verarbeitetes Lebensmittel hygienisch und sicher ist, aber noch ähnliche Eigenschaften wie das frische Produkt aufweist. Der Einsatz von gepulsten elektrischen Feldern in der Lebensmitteltechnologie kann der Forderung nach einer schonenden Behandlung vollauf gerecht werden, da es sich um ein nichtthermisches Verfahren handelt und dabei keine chemischen Substanzen verwendet werden. Dies trifft bei Milch insbesondere für Konsum- wie auch für Käsereimilch zu. Aufgrund der unterschiedlichen Empfindlichkeit der pathogenen Keime gegenüber einer PEF-Behandlung der Milch (Tabelle 3) bleibt die Erfüllung der hygienischen Standards ungeklärt.

### Perspektiven

Die Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern in der Lebensmittelindustrie weist einige Vorteile auf (4). Es handelt sich um ein nichtthermisches Verfahren – dessen Wirkung nicht auf Temperaturerhöhung beruht –, was den Ansprüchen und den Vorstellungen der Konsumentinnen und Konsumenten nach Lebensmitteln mit Frischecharakter (geringe Veränderungen von Geschmacks- und Inhaltsstoffen) sowie geringer Hitzebelastung entsprechen dürfte, wobei auch Farbe und Aroma nicht signifikant verändert werden. Zudem weist das PEF-Verfahren das Potenzial zu einem verbesserten Energiewirkungsgrad auf, vor allem bei Produkten, bei denen eine Wärmerückgewinnung bei thermischer Haltbarmachung technisch schwierig ist, etwa bei hochviskosen Produkten oder Medien mit Partikeln (13). Ein kontinuierliches Verfahren ist möglich. Mit diesem Verfahren können jedoch Sporen, beispielsweise von *B. cereus*, *Byssochlamys nivea*, *Cl. tyrobutyricum* und Viren nicht inaktiviert werden. Dies sollte in Kombination mit anderen Verfahren wie der so genannten Hürdentechnik (Gegenwart von antimikrobiellen Verbindungen, erhöhte Wasseraktivität, pH, milde Hitzebehandlung in Form einer Pasteurisierung) möglich sein (137). Im Vergleich zu den vegetativen Mikroorganismen erweisen sich hingegen die Enzyme als resistenter (113). Dieses Verfahren ist nicht nur auf flüssige Produkte begrenzt, sondern wurde auch zur Verstärkung der Trocknungsvorgänge bei festen Lebensmitteln eingesetzt (76). Die Wirksamkeit dieses Verfahrens hängt nicht von der elektrischen Leitfähigkeit des Lebensmittels ab, jedoch ist die Einsetzbarkeit entsprechender Anlagen auf Produkte mit geeigneter Leitfähigkeit begrenzt. Als sehr deutlicher Vorteil, insbesondere für die Milchverarbeitung, erweist sich indes das Fehlen von Ablagerungen in den Anlagen (Fouling), da es in der Milch bei den angewandten Temperaturen zu keiner Denaturierung oder Koagulierung der Molkenproteine kommt. Damit sind längere Standzeiten möglich.

Vor bald zehn Jahren haben *de Jong und van Heesch* (138) erwähnt, dass eines der grösseren Probleme in der Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern die Anpassung an die industrielle Anwendung (up-scaling) darstellt, da das Volumen der bis anhin untersuchten Proben nur im Bereich von einigen Millilitern liegt. Denn die damaligen Studien bezogen sich meist auf Arbeiten im Labor- oder Pilot-Plant-Massstab. Mittlerweile stehen kommerziell nutzbare Prototypen mit 200 bis 5000 l/h zur Verfügung. Solche wurden unter anderem von *Mittal et al.* (139), *ScandiNova* (S) (140), dem Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik (5, 89, 141) und *Diversified Technologies* (USA) (142) realisiert, letzterer Prototyp ist an der *Ohio State University* (143) in Betrieb. In den Niederlanden wurde von *Stork Foods* eine Pilotanlage mit einem Durchsatz von 5000 l/h und einer mittleren Leistung von 75 kW entwickelt (144). Jedoch verlangt die Industrie solche Apparate von mindestens 10000 l/h (10). Aufgrund der derzeit noch anfallenden Kosten von 0,01 bis 0,02 €/l (141) ist das Verfahren jedoch noch auf Premiumprodukte oder thermisch labile Produkte begrenzt, was mit den Berechnungen von *Töpfl* (79) und *Clark* (5) übereinstimmt. Grossindustrielle Anlagen sind prinzipiell möglich, bedürfen jedoch einer geeigneten Anwendung eines Produkts, bei dem die Vorteile einer geringeren thermischen Belastung für den Konsumenten erkennbar und damit wirtschaftlich gerechtfertigt sind. Dazu sind noch mehr systematische Studien notwendig, um dieses Verfahren handelstauglich und wirtschaftlich rentabel zu machen (145, 145).

## Zusammenfassung

Die Behandlung von Lebensmitteln mit gepulsten elektrischen Feldern wird als ein alternatives nicht-thermisches Verfahren beurteilt. Verschiedene Studien haben sich auch mit der Milch beschäftigt. Wie bei anderen Lebensmitteln hängt die Überlebensrate der Mikroorganismen in der Milch von den Anwendungsbedingungen wie Typ der Mikroorganismen, Behandlungsmedien, Verarbeitungsbedingungen und Ausrüstung ab. Auch die Enzyme der Milch werden in unterschiedlichem Masse inaktiviert, sind aber weniger empfindlich. Dabei ist die Inaktivierungsrate vom studierten Enzym, der Behandlungsintensität und den Behandlungsmedien abhängig. Mit diesem Verfahren gelingt es, ein Produkt mit organoleptischen Eigenschaften wie das Frischprodukt zu erhalten. Mit der Kombination von PEF und Pasteurisierung kann die Haltbarkeit von Milch bei Kühltemperaturen verlängert werden. Inzwischen existieren industrielle PEF-Anlagen als Prototypen.

## Résumé «Traitement du lait par champs électriques pulsés – une alternative au traitement thermique»

Le traitement des denrées alimentaires par champs électriques pulsés (CEP) est considéré comme une alternative au traitement thermique. Différentes études ont porté sur le lait. A l'instar d'autres denrées alimentaires, le taux de survie des microorganismes dans le lait dépend des conditions d'applications, du type de

microorganismes, du produit, des conditions du procédé et des installations. De même, les enzymes du lait sont inactivés à différents degrés, mais sont moins sensibles aux CEP. Le taux d'inactivation dépend du type d'enzymes, de l'intensité du traitement ainsi que des produits. Ce procédé permet de préserver les propriétés organoleptiques des produits. En combinant le procédé par champs électriques pulsés à la pasteurisation, la conservabilité du lait réfrigéré peut être prolongée. Entre-temps, des prototypes d'installations industrielles CEP ont été mis au point.

### Summary "Treatment of milk with pulsed electric fields – an alternative heat treatment"

The treatment of foodstuffs with pulsed electric fields is seen as an alternative non-thermal method. Various studies have also dealt with milk. As in other foods, the survival rate of micro-organisms in milk depends upon the application conditions as well as the type of micro-organism, product, processing conditions and equipment. The enzymes in milk are also inactivated to a varying degree but are less sensitive. Here the inactivation rate depends upon enzyme type, treatment intensity and product. This process succeeds in obtaining a product with organoleptic qualities similar to the fresh product. The keeping qualities of milk at cooling temperatures can be extended by combining PEF and pasteurisation. In the meantime, prototypes of industrial PEF installations have been developed.

### Key words

milk, pulsed electric field, high-intensity pulsed electric field, food processing

### Literatur

- 1 *Gallmann P.U. and Eberhard P.*: Alternative methods for heating milk and milk products. *Bull. Int. Dairy Fed.* **284**, 24–28 (1993)
- 2 *Deeth H.C.*: Alternatives to heat treatment of milk and fluid milk products. *Int. Dairy Fed. Group D52*, 1–8 (1996)
- 3 *Dunne C.P. and Kluter R.A.*: Emerging non-thermal processing technologies: criteria for success. *Aust. J. Dairy Technol.* **56**, 109–112 (2001)
- 4 *Devlieghere F., Vermeiren L. and Debevere J.*: New preservation technologies: Possibilities and limitations. *Int. Dairy J.* **14**, 273–285 (2004)
- 5 *Clark J.P.*: Pulsed electric field processing. *Food Technol.* **60**, 66–67 (1) (2006)
- 6 *Barsotti L., Dumay E., Mu T.H., Diaz M.D.F. and Cheftel J.C.*: Effects of high voltage electric pulses on protein-based food constituents and structures. *Trends Food Sci. Technol.* **12**, 136–144 (2001)
- 7 *Qin B.L., Pothakamury U.R., Vega H., Martin O., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.*: Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. *Food Technol.* **49**, 55–60 (12) (1995)
- 8 *Töpfl S., Jäger H. und Knorr D.*: Neues Verfahren zur Haltbarmachung von Milch. *Dt. Molk.-Ztg.* **127**, 24–28 (2) (2006)
- 9 *Bendicho S., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin O.*: Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends Food Sci. Technol.* **13**, 195–204 (2002)

- 10 Góngora-Nieto M.M., Sepulveda D.R., Pedrow P., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Food processing by pulsed electric fields: Treatment delivery, inactivation level, and regulatory aspects. *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **35**, 375–388 (2002)
- 11 Rastogi N.K.: Application of high-intensity pulsed electrical fields in food processing. *Food Rev. Int.* **19**, 229–251 (2003)
- 12 Sampedro F., Rodrigo M., Martínez A., Rodrigo D. and Barbosa-Cánovas G.V.: Quality and safety aspects of PEF application in milk and milk products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **45**, 25–47 (2005)
- 13 Toepfl S., Mathys A., Heinz V. and Knorr D.: Review: Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Rev. Int.* **22**, 405–423 (2006)
- 14 Bazhal M.I., Lebovka N.I. and Vorobiev E.: Pulsed electric field treatment of apple tissue during compression for juice extraction. *J. Food Eng.* **50**, 129–139 (2001)
- 15 Praporscic I., Shynkaryk M.V., Lebovka N.I. and Vorobiev E.: Analysis of juice colour and dry matter content during pulsed electric field enhanced expression of soft plant tissues. *J. Food Eng.* **79**, 662–670 (2007)
- 16 Lebovka N.I., Praporscic I., Ghnimi S. and Vorobiev E.: Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. *J. Food Eng.* **69**, 177–184 (2005)
- 17 Vega-Mercado H., Martín-Belloso O., Qin B.L., Chang F.J., Góngora-Nieto M.M., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. *Trends Food Sci. Technol.* **8**, 151–157 (1997)
- 18 Pothakamury U.R., Monsalve-Gonzalez A., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in model foods by pulsed electric field technology. *Food Res. Int.* **28**, 167–171 (1995)
- 19 Zhang Q.H., Qin B.L., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.: Inactivation of *E. coli* for food pasteurization by high-strength pulsed electric fields. *J. Food Process. Preservat.* **19**, 103–118 (1995)
- 20 Liu X., Yousef A.E. and Chism G.W.: Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by the combination of organic acids and pulsed electric field. *J. Food Safety* **16**, 287–299 (1997)
- 21 Fleischman G.J., Ravishankar S. and Balasubramaniam V.M.: The inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric field (PEF) treatment in a static chamber. *Food Microbiol.* **21**, 91–95 (2004)
- 22 Ravishankar S., Fleischman G.J. and Balasubramaniam V.M.: The inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 during pulsed electric field (PEF) treatment in a static chamber. *Food Microbiol.* **19**, 351–361 (2002)
- 23 Alvarez I., Virto R., Raso J. and Condon S.: Comparing predicting models for the *Escherichia coli* inactivation by pulsed electric fields. *Innov. Food Sci. Emerging Technol.* **4**, 195–202 (2003)
- 24 Wouters P.C., Dutreux N., Smelt J.P.P.M. and Lelieveld H.L.M.: Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 5364–5371 (1999)
- 25 Alvarez I., Pagan R., Condon S. and Raso J.: The influence of process parameters for the inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. *Int. J. Food Microbiol.* **87**, 87–95 (2003)
- 26 Sepulveda D.R., Góngora-Nieto M.M., San-Martin M.F. and Barbosa-Cánovas G.V.: Influence of treatment temperature on the inactivation of *Listeria innocua* by pulsed electric fields. *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **38**, 167–172 (2005)
- 27 Alvarez I., Raso J., Sala F.J. and Condon S.: Inactivation of *Yersinia enterocolitica* by pulsed electric fields. *Food Microbiol.* **20**, 691–700 (2003)
- 28 Alvarez I., Manas P., Condon S. and Raso J.: Resistance variation of *Salmonella enterica* serovars to pulsed electric fields treatments. *J. Food Sci.* **68**, 2316–2320 (2003)

- 29 Alvarez I., Raso J., Palop A. and Sala F.J.: Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. *Int. J. Food Microbiol.* **55**, 143–146 (2000)
- 30 Pagan R., Esplugas S., Góngora-Nieto M.M., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Bacillus subtilis* spores using high intensity pulsed electric fields in combination with other food conservation technologies. *Food Sci. Technol. Int.* **4**, 33–44 (1998)
- 31 Cho H.Y. and Yousef A.E.: Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. *Biotechnol. Bioeng.* **62**, 368–372 (1999)
- 32 Heinz V., Phillips S.T., Zenker M. and Knorr D.: Inactivation of *Bacillus subtilis* by high intensity pulsed electric fields under close to isothermal conditions. *Food Biotechnol.* **13**, 155–168 (1999)
- 33 Rowan N.J., MacGregor S.J., Anderson J.G., Fouracre R.A. and Farish O.: Pulsed electric field inactivation of diarrhoeagenic *Bacillus cereus* through irreversible electroporation. *Lett. Appl. Microbiol.* **31**, 110–114 (2000)
- 34 Pol I.E., Mastwijk H.C., Bartels P.V. and Smid E.J.: Pulsed-electric field treatment enhances the bactericidal action of nisin against *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 428–430 (2000)
- 35 Jin Z.T., Su Y., Tuhela L., Zhang Q.H., Sastry S.K. and Yousef A.E.: Inactivation of *Bacillus subtilis* spores using high voltage pulsed electric fields. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), *Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications*, 167–181. Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster (2001)
- 36 Aronsson K. and Rönner U.: Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2**, 105–112 (2001)
- 37 Rodrigo D., Ruiz P., Barbosa-Cánovas G.V., Martínez A. and Rodrigo M.: Kinetic model for the inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric fields. *Int. J. Food Microbiol.* **81**, 223–229 (2003)
- 38 Khadre M.A. and Yousef A.E.: Susceptibility of human rotavirus to ozone, high pressure, and pulsed electric field. *J. Food Prot.* **65**, 1441–1446 (2002)
- 39 Calderon-Miranda M.L., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Transmission electron microscopy of *Listeria innocua* treated by pulsed electric fields and nisin in skimmed milk. *Int. J. Food Microbiol.* **51**, 31–38 (1999)
- 40 Dutreux N., Notermans S., Wjitzes T., Góngora-Nieto M.M., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. *Int. J. Food Microbiol.* **54**, 91–98 (2000)
- 41 Wouters P.C., Bos A.P. and Ueckert J.: Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of *Lactobacillus* species due to pulsed electric fields. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 3092–3101 (2001)
- 42 Vega-Mercado H., Pothakamury U.R., Chang F.J., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles. *Food Res. Int.* **29**, 117–121 (1996)
- 43 Russell N.J., Colley M., Simpson R.K., Trivett A.J. and Evans R.I.: Mechanism of action of pulsed high electric field (PHEF) on the membranes of food-poisoning bacteria is an “all-or-nothing” effect. *Int. J. Food Microbiol.* **55**, 133–136 (2000)
- 44 Yaqub S., Anderson J.G., MacGregor S.J. and Rowan N.J.: Use of a fluorescent viability stain to assess lethal and sublethal injury in food-borne bacteria exposed to high-intensity pulsed electric fields. *Lett. Appl. Microbiol.* **39**, 246–251 (2004)
- 45 Wuytack E.Y., Phuong L.D.T., Aertsen A., Reyns K.M.F., Marquenie D., De Ketelaere B., Masschalck B., Van Opstal B.M.I., Diels A.M.J. and Michiels C.W.: Comparison of sublethal injury induced in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by heat and by different non-thermal treatments. *J. Food Prot.* **66**, 31–37 (2003)

- 46 Garcia D., Gomez N., Manas P., Condon S., Raso J. and Pagan R.: Occurrence of sublethal injury after pulsed electric fields depending on the micro-organism, the treatment medium pH and the intensity of the treatment investigated. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 94–104 (2005)
- 47 Picart L., Dumay E. and Chefel J.C.: Inactivation of *Listeria innocua* in dairy fluids by pulsed electric fields: influence of electric parameters and food composition. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **3**, 357–369 (2002)
- 48 Castro A.J., Swanson B.G., Barbosa-Cánovas G.V. and Zhang Q.H.: Pulsed electric field modification of milk alkaline phosphatase activity. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications, 65–82. Technomic Publ. Co Inc., Lancaster (2001)
- 49 Ho S.Y., Mittal G.S. and Cross J.D.: Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *J. Food Eng.* **31**, 69–84 (1997)
- 50 Grahl T. and Märkl H.: Killing microorganisms by pulsed electric fields. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 148–157 (1996)
- 51 Bendicho S., Estela C., Giner J., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin O.: Effects of high intensity pulsed electric field and thermal treatments on a lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *J. Dairy Sci.* **85**, 19–27 (2002)
- 52 Yeom H.W., Zhang Q.H. and Dunne C.P.: Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. *Food Chem.* **67**, 53–59 (1999)
- 53 Vega-Mercado H., Powers J.R., Martin-Belloso O., Luedecke L., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Change in susceptibility of proteins to proteolysis and the inactivation of an extracellular protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 when exposed to pulsed electric fields. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications, 105–120. Technomic Publ. Co Inc., Lancaster (2001)
- 54 Vega-Mercado H., Powers J.R., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Plasmin inactivation with pulsed electric fields. *J. Food Sci.* **60**, 1143–1146 (1995)
- 55 Bendicho S., Marselles-Fontanet A.R., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin-Belloso O.: High intensity pulsed electric fields and heat treatments applied to a protease from *Bacillus subtilis*. A comparison study of multiple systems. *J. Food Eng.* **69**, 317–323 (2005)
- 56 Bendicho S., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin O.: Reduction of protease activity in milk by continuous flow high-intensity pulsed electric field treatments. *J. Dairy Sci.* **86**, 697–703 (2003)
- 57 Bendicho S., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin O.: Reduction of protease activity in simulated milk ultrafiltrate by continuous flow high intensity pulsed electric field treatments. *J. Food Sci.* **68**, 952–957 (2003)
- 58 Yeom H.W. and Zhang Q.H.: Enzymatic inactivation by pulsed electric fields: A review. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications, 57–63. Technomic Publ. Co Inc., Lancaster (2001)
- 59 Raso J., Calderón M.L., Góngora M., Barbosa-Cánovas G. and Swanson B.G.: Inactivation of mold ascospores and conidiospores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **31**, 668–672 (1998)
- 60 Sizer C.E. and Balasubramaniam V.M.: New intervention processes for minimally processed juices. *Food Technol.* **53**, 64–67 (10) (1999)
- 61 Evrendilek G.A., Zhang Q.H. and Richter E.R.: Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* 8739 in apple juice by pulsed electric fields. *J. Food Prot.* **62**, 793–796 (1999)
- 62 Sen G.B., Masterson F. and Magee T.R.A.: Inactivation of *E. coli* K12 in apple juice by high voltage pulsed electric field. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 434–437 (2003)
- 63 Qiu X., Sharma S., Tuhela L., Jia M. and Zhang Q.H.: An integrated PEF pilot plant for continuous nonthermal pasteurization of fresh orange juice. *Transact. Am. Soc. Agric. Eng.* **41**, 1069–1074 (1998)

- 64 Jia M.Y., Zhang Q.H. and Min D.B.: Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of orange juice. *Food Chem.* **65**, 445–451 (1999)
- 65 Yeom H.W., Streaker C.B., Zhang Q.H. and Min D.B.: Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 4597–4605 (2000)
- 66 Yeom H.W., Streaker C.B., Zhang Q.H. and Min D.B.: Effects of pulsed electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *J. Food Sci.* **65**, 1359–1363 (2000)
- 67 Ayhan Z., Zhang Q.H. and Min D.B.: Effects of pulsed electric field processing and storage on the quality and stability of single-strength orange juice. *J. Food Prot.* **65**, 1623–1627 (2002)
- 68 Jin Z.T. and Zhang Q.H.: Pulsed electric field inactivation of microorganisms and preservation of quality of cranberry juice. *J. Food Process. Preservat.* **23**, 481–497 (1999)
- 69 Keith W.D.: Pulsed electric fields as a processing alternative for microbial reduction in spice. *Food Res. Int.* **30**, 185–191 (1997)
- 70 Calderon-Miranda M.L., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin. *Int. J. Food Microbiol.* **51**, 7–17 (1999)
- 71 Jeantet R., Baron F., Nau F., Roignant M. and Brule G.: High intensity pulsed electric fields applied to egg white: Effect of *Salmonella enteritidis* inactivation and protein denaturation. *J. Food Prot.* **62**, 1381–1386 (1999)
- 72 Fernandez-Diaz M.D., Barsotti L., Dumay E. and Cheftel J.C.: Effects of pulsed electric fields on ovalbumin solutions and dialyzed egg white. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2332–2339 (2000)
- 73 Góngora-Nieto M.M., Pedrow P.D., Swanson B.G. and Barbosa-Cánovas G.: Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields. *J. Food Eng.* **57**, 209–216 (2003)
- 74 Barsotti L. and Cheftel J.C.: Food processing by pulsed electric fields. 2 – Biological aspects. *Sci. Alim.* **19**, 3–33 (1999)
- 75 Ade-Omowaye B.I.O., Angersbach A., Taiwo K.A. and Knorr D.: Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. *Trends Food Sci. Technol.* **12**, 285–295 (2001)
- 76 Lebovka N.I., Shynkaryk N.V. and Vorobiev E.: Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue. *J. Food Eng.* **78**, 606–613 (2007)
- 77 Praporscic I., Shynkaryk M.V., Lebovka N.I. and Vorobiev E.: Analysis of juice colour and dry matter content during pulsed electric field enhanced expression of soft plant tissues. *J. Food Eng.* **79**, 662–670 (2007)
- 78 Anonym: Genesis juice. <http://www.genesisjuicecorp.com/pef.html>. eingesehen am 2.2.2007
- 79 Töpfl S.: Pulsed electric fields (PEF) for permeabilization of cell membranes in food- and bio-processing – applications, process and equipment design and cost analysis. Diss. Universität Berlin 1–180 (2006)
- 80 Beattie J.M.: Report on the electrical treatment of milk to the city of Liverpool. Liverpool (1915), zitiert nach Bendicho S., Barbosa-Cánovas G.V. and Martin O.: Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends Food Sci. Tech.* **13**, 195–204 (2002)
- 81 Beattie J.M. and Lewis F.C.: The electric current (apart from the heat generated). A bacteriological agent in the sterilization of milk and other fluids. *J. Hyg.* **24**, 113–123 (1925)
- 82 Fetterman J.C.: The electrical conductivity method of processing milk. *Agric. Eng.* **4**, 407–408 (1928)
- 83 Getchell B.E.: Electric pasteurization of milk. *Agric. Eng.* **16**, 408–410 (1935)
- 84 Doevenspeck H.: Influencing cells and cell walls by electrostatic impulses. *Fleischwirtschaft* **13**, 968–987 (1961)

- 85 Hamilton W.A. and Sale A.J.H.: Effects of high electric fields on microorganisms. 2. Mechanism of action of lethal effect. *Biochim. Biophys. Acta* **148**, 789–800 (1967)
- 86 Sale A.J.H. and Hamilton W.A.: Effects of high electric fields on microorganisms. I. Killing of bacteria and yeasts. *Biochim. Biophys. Acta* **148**, 781–788 (1967)
- 87 Dunn J.E. and Pearlman J.S.: Methods and apparatus for extending the shelf life of fluid food products. US Patent 4 695 472 (1987)
- 88 Barbosa-Cánovas G.V., Pothakamury U.R., Palou E. and Swanson B.G.: Nonthermal preservation of foods. M. Dekker, New York (1997)
- 89 Toepfl S., Heinz V. and Knorr D.: Applications of pulsed electric field technology for the food industry. In: Raso J. and Heinz V. (editors), *Pulsed electric field technology for the food industry 197–221*. Springer, Berlin (2006)
- 90 Smith K., Mittal G.S. and Griffiths M.W.: Pasteurization of milk using pulsed electrical field and antimicrobials. *J. Food Sci.* **67**, 2304–2308 (2002)
- 91 Michalac S., Alvarez V., Ji T. and Zhang Q.H.: Inactivation of selected microorganisms and properties of pulsed electric field processed milk. *J. Food Process. Preservat.* **27**, 137–151 (2003)
- 92 Fernández-Molina J.J., Fernández-Gutiérrez S.A., Altunakar B., Bermúdez-Aguirre D., Swanson B.G. and Barbosa-Cánovas G.V.: The combined effect of pulsed electric fields and conventional heating on the microbial quality and shelf life of skim milk. *J. Food Process. Preservat.* **29**, 390–406 (2005)
- 93 Fernández-Molina J.J., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Skim milk processing by combining pulsed electric fields and thermal treatments. *J. Food Process. Preservat.* **29**, 291–306 (2005)
- 94 Pothakamury U.R., Monsalve-Gonzalez A., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: High voltage pulsed electric field inactivation of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus delbrueckii*. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim.* **35**, 101–107 (1995)
- 95 Fernández-Molina J.J., Barkstrom E., Torstenson P., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Listeria innocua* and *Pseudomonas fluorescens* in skim milk treated with pulsed electric fields (PEF). In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), *Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications*, 149–166. Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster (2001)
- 96 Fernández-Molina J.J., Altunakar B., Bermúdez-Aguirre D., Swanson B.G. and Barbosa-Cánovas G.V.: Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* in skim milk by combinations of pulsed electric fields and organic acids. *J. Food Prot.* **68**, 1232–1235 (2005)
- 97 Fernández-Molina J.J., Bermúdez-Aguirre D., Altunakar B., Swanson B.G. and Barbosa-Cánovas G.V.: Inactivation of *Listeria innocua* and *Pseudomonas fluorescens* by pulsed electric fields in skim milk: Energy requirements. *J. Food Proc. Eng.* **29**, 561–573 (2006)
- 98 Martin O., Qin B.L., Chang F.J., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Escherichia coli* in skim milk by high intensity pulsed electric fields. *J. Food Process Eng.* **20**, 317–336 (1997)
- 99 Terebiznik M., Jagus R., Cerrutti P., de Huerdo M.S. and Pilosof A.M.R.: Inactivation of *Escherichia coli* by a combination of nisin, pulsed electric fields, and water activity reduction by sodium chloride. *J. Food Prot.* **65**, 1253–1258 (2002)
- 100 Pothakamury U.R., Vega H., Zhang Q., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Effect of growth stage and processing temperature on the inactivation of *E. coli* by pulsed electric fields. *J. Food Prot.* **59**, 1167–1171 (1996)
- 101 Rivas A., Sampedro F., Rodrigo D., Martínez A. and Rodrigo M.: Nature of the inactivation of *Escherichia coli* suspended in an orange juice and milk beverage. *Eur. Food Res. Technol.* **223**, 541–545 (2006)
- 102 Terebiznik M.R., Jagus R.J., Cerrutti P., de Huerdo M.S. and Pilosof A.M.R.: Combined effect of nisin and pulsed electric fields on the inactivation of *Escherichia coli*. *J. Food Prot.* **63**, 741–746 (2000)

- 103 Evrendilek G.A. and Zhang Q.H.: Effects of pulse polarity and pulse delaying time on pulsed electric fields-induced pasteurization of *E. coli* O157:H7. *J. Food Eng.* **68**, 271–276 (2005)
- 104 Calderon-Miranda M.L., Barbosa-Cánovas G.V. and Swanson B.G.: Inactivation of *Listeria innocua* in skim milk by pulsed electric fields and nisin. *Int. J. Food Microbiol.* **51**, 19–30 (1999)
- 105 Reina L.D., Jin Z.T., Zhang Q.H. and Yousef A.E.: Inactivation of *Listeria monocytogenes* in milk by pulsed electric field. *J. Food Prot.* **61**, 1203–1206 (1998)
- 106 Rowan N.J., MacGregor S.J., Anderson J.G., Cameron D. and Farish O.: Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* by pulsed electric fields. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2833–2836 (2001)
- 107 Sensoy I., Zhang Q.H. and Sastry S.K.: Inactivation kinetics of *Salmonella dublin* by pulsed electric field. *J. Food Process Eng.* **20**, 367–381 (1997)
- 108 Flourey J., Grosset N., Leconte N., Pasco M., Madec M.N. and Jeantet R.: Continuous raw skim milk processing by pulsed electric field at non-lethal temperature: effect on microbial inactivation and functional properties. *Lait* **86**, 43–57 (2006)
- 109 Flourey J., Grosset N., Lesne E. and Jeantet R.: Continuous processing of skim milk by a combination of pulsed electric fields and conventional heat treatments: does a synergetic effect on microbial inactivation exist? *Lait* **86**, 203–211 (2006)
- 110 Evrendilek G.A., Zhang Q.H. and Richter E.R.: Application of pulsed electric fields to skim milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Biosyst. Eng.* **87**, 137–144 (2004)
- 111 Sobrino-Lopez A. and Martin-Belloso O.: Enhancing inactivation of *Staphylococcus aureus* in skim milk by combining high-intensity pulsed electric fields and nisin. *J. Food Prot.* **69**, 345–353 (2006)
- 112 Sobrino-Lopez A., Raybaudi-Massilia R. and Martin-Belloso O.: High-intensity pulsed electric field variables affecting *Staphylococcus aureus* inoculated in milk. *J. Dairy Sci.* **89**, 3739–3748 (2006)
- 113 van Loey A., Verachtert B. and Hendrickx M.: Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends Food Sci. Technol.* **12**, 94–102 (2001)
- 114 Castro A.J., Swanson B.G., Barbosa-Cánovas G.V. and Dunker A.K.: Pulsed electric field denaturation of bovine alkaline phosphatase. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), *Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications*, 83–103. Technomic Publ. Co Inc., Lancaster (2001)
- 115 Soliva-Fortuny R., Bendicho-Porta S. and Martin-Belloso O.: Modeling high-intensity pulsed electric field inactivation of a lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *J. Dairy Sci.* **89**, 4096–4104 (2006)
- 116 Perez O.E. and Pilosof A.M.R.: Pulsed electric fields effects on the molecular structure and gelation of  $\beta$ -lactoglobulin concentrate and egg white. *Food Res. Int.* **37**, 102–110 (2004)
- 117 Odriozola-Serrano I., Bendicho-Porta S. and Martin-Belloso O.: Comparative study on shelf life of whole milk processed by high-intensity pulsed electric field or heat treatment. *J. Dairy Sci.* **89**, 905–911 (2006)
- 118 Bendicho S., Espachs A., Arantegui J. and Martin O.: Effect of high intensity pulsed electric fields and heat treatments on vitamins of milk. *J. Dairy Res.* **69**, 113–123 (2002)
- 119 Yeom H.W., Evrendilek G.A., Jin Z.T. and Zhang Q.H.: Processing of yogurt-based products with pulsed electric fields: Microbial, sensory and physical evaluations. *J. Food Process. Preservat.* **28**, 161–178 (2004)
- 120 Sepulveda-Ahumada D.R., Ortegá-Rivas E. and Barbosa-Cánovas G.V.: Quality aspects of Cheddar cheese obtained with milk pasteurized by pulsed electric fields. *Food Bioprod. Process.* **78**, 65–71 (2000)
- 121 Evrendilek G.A. and Zhang Q.H.: Effects of pH, temperature, and pre-pulsed electric field treatment on pulsed electric field and heat inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Protect.* **66**, 755–759 (2003)

- 122 Amiali A., Ngadi M.O., Smith J.P. and Raghavan G.S.V.: Synergistic effect of temperature and pulsed electric field on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg yolk. *J. Food Eng.* **79**, 689–694 (2007)
- 123 Heinz V., Toepfl S. and Knorr D.: Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **4**, 167–175 (2003)
- 124 Sepulveda D.R., Góngora-Nieto M.M., Guerrero J.A. and Barbosa-Cánovas G.V.: Production of extended-shelf life milk by processing pasteurized milk with pulsed electric fields. *J. Food Eng.* **67**, 81–86 (2005)
- 125 Evrendilek G.A., Dantzer W.R., Streaker C.B., Ratanatriwong P. and Zhang Q.H.: Shelf-life evaluations of liquid foods treated by pilot plant pulsed electric field system. *J. Food Process. Preservat.* **25**, 283–297 (2001)
- 126 Pol I.E., Mastwijk H.C., Slump R.A., Popa M.E. and Smid E.J.: Influence of food matrix on inactivation of *Bacillus cereus* by combinations of nisin, pulsed electric field treatment, and carvacrol. *J. Food Prot.* **64**, 1012–1018 (2001)
- 127 Gallo L.I., Pilosof A.M.R. and Jagus R.J.: Effect of the sequence of nisin and pulsed electric fields treatments and mechanisms involved in the inactivation of *Listeria innocua* in whey. *J. Food Eng.* **79**, 188–193 (2007)
- 128 Stewart C.M., Tompkin R.B. and Cole M.B.: Food safety: new concepts for the new millennium. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **3**, 105–112 (2002)
- 129 National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods: Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. *J. Food Prot.* **69**, 1190–1216 (2006)
- 130 Reyns K.M.F.A., Diels A.M.J. and Michiels C.W.: Generation of bactericidal and mutagenic components by pulsed electric field treatment. *Int. J. Food Microbiol.* **93**, 165–173 (2004)
- 131 Morren J., Roodenburg B., und de Haan S.W.H.: Electrochemical reactions and electrode corrosion in pulsed electric field (PEF) treatment chambers. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **4**, 285–295 (2003)
- 132 Roodenburg B., Morren J., Berg H.E., and de Haan S.W.H.: Metal release in a stainless steel pulsed electric field (PEF) system: Part I. Effect of different pulse shapes; theory and experimental method. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **6**, 327–336 (2005)
- 133 Roodenburg B., Morren J., Berg H.E., and de Haan S.W.H.: Metal release in a stainless steel pulsed electric field (PEF) system: Part II. The treatment of orange juice; related to legislation and treatment chamber lifetime. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **6**, 337–345 (2005)
- 134 Anonym: Hygieneverordnung vom 23. November 2005, SR 817.024.1.  
<http://www.bk.admin.ch/ch/d/sr/8/817.024.1.de.pdf>, eingesehen 7. Dezember 2006
- 135 Sanchez-Moreno C., Cano M.P., De Ancos B., Plaza L., Olmedilla B., Granado F., Elez-Martinez P., Martin-Belloso O. and Martin A.: Pulsed electric fields-processed orange juice consumption increases plasma vitamin C and decreases F2-isoprostanes in healthy humans. *J. Nutr. Biochem.* **15**, 601–607 (2004)
- 136 Lelieveld H.L.M., Wouters P.C. and Leon A.E.: Pulsed electric field treatment of food and product safety assurance. In: Barbosa-Cánovas, G.V. and Zhang, Q.H. (editors), Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications, 259–264. Technomic Publ. Co Inc., Lancaster (2001)
- 137 Ross A.I., Griffiths M.W., Mittal G.S. and Deeth H.C.: Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* **89**, 125–138 (2003)
- 138 de Jong P. and van Heesch E.J.M.: Effect of pulsed electric fields on the quality of food products. *Milchwissenschaft* **53**, 4–8 (1998)
- 139 Mittal G.S., Ho S.Y.W., Cross, J.D. and Griffiths M.W.: Method and apparatus for electrically treating foodstuffs for preservation. US Patent 6 093 432 (2000)

- 140 *Anonym*: A new line of solid state. Excellence in pulsed power. <http://www.sc-nova.com/>, eingesehen am 2.2.2007
- 141 *Braakman L.*: Breakthroug in pasteurisation – Pulsed electric fields. *Food Eng. Ingredients* 34–38 (3) (2003)
- 142 *Anonym*: Pulsed electric fields. [http://www.divtecs.com/pef\\_06.htm](http://www.divtecs.com/pef_06.htm), eingesehen am 2.2.2007
- 143 *Ramaswamy R., Jin T., Balasubramaniam V.M. and Zhang H.*: Pulsed electric food processing. Factsheet for food processors. Bull. Number FSE-2-05 (2006), <http://ohioline.osu.edu/fse-fact/0002.html>, eingesehen am 7. Dezember 2006
- 144 *Smit C.*: Industrial scale pulsed electric field. IFT Symposium, Las Vegas, July, 13<sup>th</sup>, 2004
- 145 *Takhistov P.*: Dimensionless analysis of the electric field-based food processes for scale-up and validation. *J. Food Eng.* 78, 746–754 (2007)
- 146 *Ho S. and Mittal G.S.*: High voltage pulsed electrical field for liquid food pasteurization. *Food Rev. Int.* 16, 395–434 (2000)

Korrespondenzadresse: Dr. Pius Eberhard, Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, 3003 Bern, E-Mail: [pius.eberhard@alp.admin.ch](mailto:pius.eberhard@alp.admin.ch)