

## Vurgulu Elektrik Alan (PEF) Teknolojisi

Seda Ersus Bilek

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir  
E-posta: seda.ersus@ege.edu.tr

### ÖZET

Geleneksel ısı işlem yerine geçebilecek ısı olmayan yeni teknolojilerin gıda sanayinde kullanımı giderek önem kazanmaktadır. Bu tekniklerin, gıdaların güvenli hale getirilmesinde kalite kayıplarının azaltılması ve daha verimli üretim olanağı sağlaması gibi avantajları vardır. Isıl olmayan işlemler kapsamında ele alınan PEF uygulamaları son yıllarda üzerinde çok fazla çalışılan bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. 1990 yılından itibaren yoğun olarak üzerinde çalışılan PEF'nin gıdalar üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmaların sayısı Food Science and Technology Abstracts'a (FSTA) göre 2000 yılında yaklaşık 150 iken 2009 yılında 5949'a çıkmıştır. Bu derleme kapsamında PEF hakkında temel bilgiler, gıda sanayindeki uygulamaları ve dünyadaki endüstriyel durumu hakkında bilgi verilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Vurgulu elektrik alan, Isısal olmayan işlemler, Elektroporasyon

### Pulsed Electric Field (PEF) Technology

#### ABSTRACT

Importance in non-thermal food processing is increasing in food industry. This new technology has advantages like reduction in quality losses during food processing and increased efficiency of food processes in comparison to conventional thermal food processing technologies. Studies on the effect of PEF on foods have significantly increased after 1990s, and according to Food Science and Technology Abstracts (FSTA), the number of research studies on PEF application in foods increased from 150 in 2000 to 5949 in 2009. In this present study, principles of PEF, its application in food processing and some PEF systems on an industrial scale were reviewed.

**Key Words:** Pulsed electric field, Non-thermal processes, Electroporation

#### GİRİŞ

Vurgulu elektrik alan teknolojisi son yıllarda üzerinde önemle durulan bir yöntem olmakla birlikte sıvı ve katı gıdalarda değişen amaçlarla kullanımının optimize edilmesi üzerinde çalışmalar çoğunluktadır. Geleneksel ısı işlem yerine sıvı gıdaların pastörizasyonunda kullanılabilecek en umut verici teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır [1]. Bu nedenle meyve sularında PEF uygulamaları mezofilik bakteri, maya ve küf gibi mikroflorayı oluşturan mikroorganizmaların inaktivasyonu konusunda yoğunlaşmıştır. Günümüze kadar sıvı gıdaların pastörizasyonu üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olup endüstriyel olarak da meyve suyu gibi ticari ürünler piyasada satışa sunulmuştur. İlk ticari tesis Genesis tarafından meyve sularının pastörizasyonu amacıyla

ABD'de 2005 yılında kurulmuştur. Ekipman kapasitesi 200 L/h'tir. Vurgulu elektrik alan uygulaması ile pastörize edilen meyve sularının raf ömrünün 4 hafta olduğunun belirlenmesi ile tekniğin güvenli olduğu belirlenmiştir [21]. Vurgulu elektrik alan uygulamaları ABD'de Gıda ve İlaç İdaresi tarafından (FDA) tarafından 1996 yılında sıvı yumurta pastörizasyonu işlemi için onaylanmış olup Avrupa'da ise halen onay beklemektedir. Avrupa Birliği'nde (Novel Foods Regulation (EC) No 258/97 kapsamında) PEF uygulanmış ürünlerin daha detaylı olarak araştırılması gereklidir.

Vurgulu elektrik alan uygulamasının, katı gıdalarda ekstraksiyon, kurutma gibi gıda prosesleri öncesinde bir ön işlem basamağı olarak kullanımının proseslerin verimini, hızını ve ürün kalitesini arttırdığı belirlenmiş bu

konu üzerine araştırmalar en fazla Almanya ve Fransa'da gerçekleştirilmiştir. Endüstriyel anlamda bu teknolojinin katı ürünlere uygulanmasında karşılaşılan zorlukların yanı sıra yüksek kapasitede ekipman geliştirilmesi ve bu teknolojinin var olan endüstriyel sistemlere adapte edilmesi konusunda zorluklar bulunduğu karşımıza çıkmaktadır.

Elektriksel olarak uyarılan hücre zarlarının elektriksel yıkıma uğradığı 1958 yılından itibaren bilinmekle birlikte [2] bu tarihten yaklaşık 10 yıl sonra yüksek voltajda PEF'e maruz kalan mikroorganizmaların inaktive olduğu belirlenmiştir [3]. Bunun yanı sıra, 1972 yılında elektrik uygulaması sonucunda hücrelerde kısa süreli porların açıldığı keşfedilmiş [4] ve bu kapsamda ilk kez molekülün kırmızı kan hücreleri içerisine transferi ile ilgili çalışmalar başlatılmıştır [5]. Vurgulu elektrik alan uygulamalarının biyolojik materyallerde hücre zarı geçirgenliğini arttırdığı bilinmektedir [6, 7, 8, 9]. Düşük elektriksel alan şiddetlerinde çalışıldığı durumlarda hücre yaralanmalarının iyileştiği, hücre büyümesi olduğu, hücre içine dışarıdan molekül transferinin kolaylaştığı belirtilirken yüksek şiddette elektrik alan uygulamalarında ise hücre zarı bütünlüğünün bozulduğu tespit edilmiştir [6, 10, 11]. Canlı bir hücre dışarıdan vurgulu elektriksel bir alana maruz bırakılırsa, hücre zarında geçirgenlik artar veya hücre zarı mekaniksel olarak parçalanır. Bu olaya "elektroporasyon" denir. Belli bir kritik seviyeye kadar PEF uygulaması sonucunda hücre zarında porların açılıp kapanması geri dönüşümlü elektroporasyon, kritik seviye üzerindeki uygulamalarda ise hücre zarının parçalanması geri dönüşümsüz elektroporasyon olarak adlandırılır [9, 11]. Bu durum temelde uygulanan elektrik alan şiddeti, vurgu süresi ve uygulama sıcaklığı ile ilişkilidir.

Her hücre zarı kendine özgü transmembran potansiyeline sahiptir. Yüklü moleküllerin oluşturduğu bu potansiyelin belli bir seviyeye kadar arttırılması sırasında, hücre zarını oluşturan fosfolipit tabakası bütünlüğünü koruyabilmektedir. Fosfolipidlerin hidrofilik grupları hücre zarının yüzey tarafını oluştururken, hidrofobik gruplar ise hücre zarının içindeki bölgede bulunmakta ve akışkan yapıdaki hücre zarını oluşturmakta ve bu hücre zarı içerisinde ise proteinler yer almaktadır. Proteinler zarın hem iç, hem dış yüzeyinde mozaik şekilde dağılırlar. Değişen elektriksel alan şiddeti uygulamalarında, hücre zarındaki elektriksel potansiyel 0.7-2.2 V gibi kritik bir değere ulaşmakta ve iletim kanalları olarak işlev gören porların oluşumu nanosaniyeler gibi kısa bir sürede başlamakta, yüksek iletim gücüne sahip porların oluşması ise birkaç mikro saniyede gerçekleşmektedir [10]. Vurgulu elektrik alan tekniğinin hücre zarının bütünlüğünü bozucu etkisinden yararlanılarak bu teknik gıda proseslerinde kütle transferini arttırmak, kurutma ve ekstraksiyon işlemlerinde verimi ve işlem hızını arttırmak amacıyla kullanılmakta [8, 12, 13, 14, 15] ayrıca özellikle sıvı gıdaların bu teknikle mikrobiyal inaktivasyonu üzerine çalışmalar yapılmaktadır [16, 17, 18, 19, 20].

Isıl işlem gerektirmeyen ve düşük enerji ile bitki ve hayvan hücrelerinin parçalanması için yüksek bir potansiyele sahip bu tekniğin araştırmadan uygulamaya geçmesinde sınırlandırmalar bulunmaktadır. En büyük eksik ise endüstriyel boyutta uygulama sistemlerinin bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle gıda üreticilerinden yenilikçi motivasyona gereksinim duyulmaktadır [21].

Bu derleme kapsamında PEF hakkında temel bilgiler, gıda sanayindeki uygulamaları ve dünyadaki endüstriyel durumu hakkında bilgi verilmektedir.

## VURGULU ELEKTRİK ALANIN TEMELLERİ

Elektroporasyon günümüzde biyoteknolojik ve tıbbi uygulamalarda dışarıdan canlı hücre içerisine ilaç ya da gen transferinde kullanılan bir yöntemdir [22, 23]. Bu oluşum, kısa ve yoğun elektrik vurgusu uygulaması sonucu hücre zarında geçirgenliğin artması olarak tanımlanabilir. Elektroporasyon ile hücre içine DNA transferinin yanı sıra araştırma amaçlı enzim ve antikörlerin transferi veya ilaçların hücre içine alımı amaçlı molekül transferleri uygulamaları bulunmaktadır [6]. Elektroporasyonla ilgili hücre transmembran voltajı  $[U(t)]$  ve transmembran akımı  $[I(t)]$  ölçüldüğu çalışmaların [24, 25] yanı sıra farklı büyüklüklerde, şekillerde ve farklı yüklerde moleküllerin hücre içine transferinin açıklandığı çalışmalar da bulunmaktadır [26, 27]. Ancak hala elektroporasyon konusunda hücre zarında gerçekleşen uyarılmaların hidrofobik porların oluşumuna neden olması, bunu takiben hidrofilik veya daha kompleks porlara dönüşmesi gibi mikroskobik yapısal düzenlemelerle ilgili bilgiler tam olarak açıklanamamış değildir [6].

Dielektrik parçalanma teorisi ilk kez Zimmermann ve ark. [28] ve Neumann ve Rosenheck [4] tarafından açıklanmaya çalışılmıştır. Bu teoriye göre elektrostatik sıkıştırma kuvveti ile hücre zarının elastik ters kuvveti arasındaki dengenin bozulması sonucunda ortaya çıkılmaktadır. Uygulanan kuvvetin arttırılması ile hücre zarı kalınlığı azalmaktadır. Hücre zarı sıkıştırılmaz özellikte olduğundan hücre zarı alanı ile yağ tabakaları arasındaki oran artmakta bunun sonucunda hücre zarı yağlarının faz dengesi bozulmaktadır. 1-10 kV/cm kuvvetin 10-15 ms bir hücreye uygulaması sonucunda geri dönüşümsüz olarak hücre zarı parçalanmaktadır [29].

Tsong'a [30, 31] göre ise transmembran potansiyeli belli bir değere ulaştığında hücre zarı iyonlara ve küçük moleküllere karşı geçirgenlik özelliğini kaybetmekte ve sitoplazmada yer alan büyük moleküller için yarı geçirgen hale dönüşmektedir. Bu moleküllerin ozmotik basıncından dolayı hücre şişmekte ve hücre zarı parçalanmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinin kullanıldığı çalışmada hücre zarında oluşan porların, 20 ile 120 nm çapında olduğu ve yanardağ şeklinde oluşumlar meydana geldiği hızlı donduruculu taramalı elektron mikroskobu ile belirlenmiştir [32]. Ancak teorikte 1 nm olarak tahmin edilen por

boyutuna göre çok yüksek çapa sahip olan [6] bu oluşumların ikincil yapılar olabileceği tahmin edilmektedir. Sonuç olarak PEF uygulaması sonucu oluşan porlar direkt olarak halen belirlenmemiştir [33]. Tek hücreli yapılarla yapılan çalışmalar birçok hücrenin bir araya gelerek oluşturduğu dokularda oluşan elektroporasyonun açıklanması için uygun bir yöntem olmamakla beraber temel mekanizmanın aydınlatılması için kullanılabilir bir yaklaşımdır [34]. Birbirine komşu olan hücreler direkt temas halinde bulunmasalar bile, karşılıklı elektriksel gölgeleme sonucu birbirlerini etkileyebilirler [35]. Dokular düzensiz şekle sahip, damar yapısında ve farklı hücre tiplerinden oluşmakta her bir hücrenin elektriksel özellikleri farklılık gösterebilmektedir [36]. Dolayısıyla farklı hücre yapısındaki farklı dokularla yapılan uygulamalarda farklılıkların olması kaçınılmazdır.

Bitki ve hayvan hücreleri ile yapılan çalışmalarda farklı elektriksel alan şiddetlerinde hücre zarı için transmembran potansiyeli ~0.7-2.2 V olan kritik değerlere vurgu uygulamasından 1µs'lik süre sonunda ulaşılmaktadır [37]. Bitki dokularında yer alan hücre zarının parçalanması için uygulanması gereken kritik elektriksel alan ise 150-200 V/cm olarak belirlenmiştir [37]. Mönch ve Knorr, asma hücreleriyle yaptıkları çalışmada pH değişimlerini izleyerek elektrik uygulaması sonunda önce hücre zarının daha sonra koful zarının geçirgenlik kazandığını öne sürmüşlerdir [38].

## GIDA SANAYİNDE UYGULAMALAR

Gıda sanayinde PEF uygulamalarında kritik elektrik alan parametreleri doğru olarak seçilmelidir. Sularda ve sıvı gıdalarda mikrobiyal inaktivasyonu için kullanılan elektrik alan şiddeti genellikle 10-60 kV/cm, vurgu süresi ise mikro ile milisaniye arasında değişim göstermektedir [10, 11, 19, 39]. Optimum proses koşullarının belirlenmesinde en önemli noktalardan birisi en düşük enerji tüketiminde istenilen amaca uygun proseslerin koşullarının belirlenmesidir [40]. Isıl işlem uygulamadan gıdaların korunmasında en büyük amaç yüksek kalitede ürün elde edilmesidir [39].

Enzimler gıdalarda doğal olarak bulunan proteinler olup biyolojik proseslerin düzenlenmesinde katalitik aktivitelerden sorumlu maddelerdir. Enzimlerin PEF ile inaktivasyonu konusunda yapılan çalışma bulgularında tezatlıklar söz konusudur. Bazı araştırma grupları enzimler üzerine PEF uygulamasının enzimleri inaktive ettiğini savunurken bazı gruplar hiç bir etkisinin olmadığı görüşündedirler [41]. Farklı sonuçlara ulaşılmasında çalışmalarda kullanılan hammadde farklılığı, hedef enzimin farklılığı gibi konular önemli olurken, bazı enzimlerin kimyasal yapılarına bağlı olarak PEF uygulamalarına daha duyarlı olduğu düşünülebilir. Enzimlerin kompleks yapıları nedeniyle bu konuda yapılacak çalışmaların artırılması gereklidir.

Elektrik alan şiddetine göre PEF düşük ( $E \leq 100-200$  V/cm),

orta ( $E=300-1500$  V/cm) ve yüksek ( $E > 1500$  V/cm) olarak sınıflandırılmıştır [13]. Bitki hücre zarlarının parçalanması için genellikle orta şiddette elektrik alanlar yeterli olmaktadır. Bitki hücre dokularına PEF uygulaması ile hücreden ekstrakte edilecek maddelerin kütle transferleri artmaktadır [7, 13, 42, 43, 44]. Ekstraksiyonun yanı sıra kurutma proseslerinde de PEF uygulaması ön işlem olarak kullanılabilir. Kurutma zamanında ve sıcaklığının azaltılmasında etkili olabilecek bu işlem prosesin maliyetini düşürebileceği gibi üretim kapasitesini de arttırabilecektir. Hücre zarı parçalanmasının amaçlandığı bu ön işlem uygulaması sonrasında elde edilen ekstraktların kalite açısından ısısal ve enzimatik olarak ön işleme tabi tutulmuş ürünlere göre daha iyi özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların daha saf ve berrak olması gıda üretiminde gereksinim duyulabilecek fazladan işlem basamaklarının gereksinimi azaltmaktadır. Meyve ve sebzelerde hücre zarının parçalanması için gereken elektrik alan şiddetinin 0.5-1 kV/cm olmasının yeterli olduğu bilinmektedir. Vurgulu elektrik alan uygulaması sonrasında şeker pancarından elde edilen ekstrakt veriminin 10 bar basınçta %62.3'e kadar arttırılabildiği belirlenmiştir [45]. Ekstrakt veriminin belirlendiği çalışmalarda havuç suyu üretiminde ekstrakt verimi hiç ön işleme tabi tutulmadan preslenen hammaddeye göre %60.1 ile 66.4 artış gösterirken üzümle yapılan çalışmada üzüm suyu verimi enzimatik maserasyon sonrası elde edilen verimle (%87) aynı bulunurken PEF ile gerçekleşen hücre parçalanmasından dolayı çözünen madde ve pigment miktarının arttığı belirlenmiştir [46].

Endüstriyel uygulamalara örnek olarak şeker pancarına PEF uygulaması ile ekstraksiyon verimini arttırmak amacıyla bir mobil sistem kurulmuştur [47, 48]. Endüstriyel bir prototip sistem ise Almanya'da kurulu bir meyve suyu fabrikasına 2006 yılında monte edilmiştir [21]. Günümüzde şeker pancarının yanı sıra bütün halde bulunan patateslere de endüstriyel olarak PEF uygulaması yapılmaktadır. Parçalama işleminden geçirildikten sonra PEF uygulamaları ise meyve suyu endüstrisinde %10-15 oranında verim artışı sağlarken, zeytinlerden yağ ekstraksiyonunda bu artış %1-2 civarında gerçekleşmektedir. Pamuk çekirdeği yağı ekstraksiyonunda ELCRACK sistemi ile 2 kV/cm PEF uygulaması sonucunda yağ ekstraksiyon veriminin %17 den %19'a çıktığı belirlenmiştir [49]. Ayrıca bebekler için hazırlanan formülasyonlarda sıcaklıkla birlikte PEF uygulanması üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

## SONUÇ

Vurgulu elektrik alan uygulamasının gıda sanayinde güvenli gıda üretimi veya gıda proseslerinde ön işlem olarak kullanımının avantajları üzerine yapılmış ve yapılmakta olan çalışmalar kapsamında gelecekte kullanım olasılığı yüksek bir proses olarak değerlendirmek mümkündür. Ancak ısı işlem yerine tek başına bu tekniğin

kullanımının günümüzde ve yakın gelecekte mümkün olmaması yeni teknikler içerisinde yer alan PEF teknolojisi için de en büyük dezavantajlardan bir tanesidir. Bu durum göz önüne alınarak ısı ileme veya diğer yeni proseslerle oluşturulabilecek kombinasyonlarla en iyi kalitede ürün eldesi için çalışılması ve PEF uygulamaları için optimizasyonların yapılması gerekmektedir.

Bugüne kadar elde edilmiş araştırma sonuçlarına göre ısıya duyarlı gıdaların dayanıklı hale getirilmesinde veya kurutma ve ekstraksiyon gibi gıda proseslerinde ön işlem olarak PEF uygulamalarının kullanılabilirliği belirlenmiştir. Mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerine PEF etkisinin incelendiği çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen uygulama parametrelerindeki farklılıktan dolayı araştırmaların karşılaştırılmasında zorluklar ortaya çıkmaktadır. Gelecekte, PEF uygulanmış ürünlerle ilgili tüketici çalışmalarının yapılması, teknolojinin çeşitli ülkelerdeki gıda veya sağlık otoriteleri tarafından onaylanması, bilimsel temellerinin geliştirilmesi ve kapasitesi yüksek ekipman tasarımı sonrasında söz konusu teknolojinin endüstriyel uygulamalarının artması beklenmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Lund, D.B., 2008. Food Engineering for the 21st Century. In J. Welte-Chanes, G.V. Barbosa-Cánovas, J.M. Aguilera (Eds.), *Engineering and food for the 21st century* (s.1-13). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- [2] Stampfli, R., 1958. Die Strom-Spannungs-Charakteristik der erregbaren Membran eines einzelnen Schriirings und ihre Abhängigkeit von der Ionenkonzentration. *Helv. Physiol. Acta* 16: 127-145.
- [3] Sale A.J.H., Hamilton, W.A., 1967. Effects of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeasts. *Biochim. Biophys. Acta.* 148: 781-788.
- [4] Neumann E., Rosenheck, K., 1972. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes, *J. Membr. Biol.* 10: 279-290.
- [5] Kinoshita, K. Jr., Tsong, T.Y., 1977. Formation and resealing of pores of controlled sizes in human erythrocyte membrane. *Nature* 268: 438-441.
- [6] Weaver, J.C., Chizmadzhev, Y.A., 1996. Theory of electroporation: A review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 41(2): 135-160.
- [7] Knorr, D., Guelen, M., Grahl, T., Sitzmann, W., 1994. Food application of high electric field pulses. *Trends in Food Science and Technology* 5: 71-75.
- [8] Knorr, D., 1994b. Plant cell and tissue cultures as model systems for monitoring the impact of unit operations on plant food. *Trends in Food Science and Technology* 5: 328-331.
- [9] Zimmermann, U., 1986. Electrical breakdown, electroporation and electrofusion. *Rev Physiol. Biochem. Pharmacol.* 105: 176-256
- [10] Angersbach, A., Heinz, V., Knorr, D., 2000. Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems. *Innovative Food Science and Emerging Technology* 1: 135-149.
- [11] Lebovka, N., Praporscic, I., Vorobiev, E., 2004. Combined treatment of apples by pulsed electric fields and by heating at moderate temperature. *Journal of Food Engineering* 65: 211-217.
- [12] Angersbach, A., Heinz, V., Knorr, D., 1999. Electrophysiological model of intact and processed plant tissues: cell disintegration criteria. *Biotechnol. Prog.* 15: 753-762.
- [13] Bazhal, M.I., Vorobiev, E.I., 2000. Electrical treatment of apple slices for intensifying juice pressing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1668-1674.
- [14] Bazhal, M.I., Lebovka, N.I., Vorobiev, E.I., 2001. Pulsed electric field treatment of apple tissue during compression for juice extraction. *Journal of Food Engineering* 50 (3): 129-139.
- [15] Bajgai, T. R., Hashinaga, F., 2001. High electric field drying of Japanese radish. *Drying Technology* 19 (9): 2291-2302.
- [16] Zhang, Q., Chang, F.J., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G., 1994. Inactivation of microorganisms in a semisolid model food using high voltage pulsed electric fields. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 27: 538-543.
- [17] Sensoy, I., Zhang, Q.H., Sastry, S.K., 1997. Inactivation kinetics of *Salmonella Dublin* by pulsed electric field. *J. Food Process Eng.* 20: 367-381.
- [18] Qin, B., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G., Pedrow, P.D., Olsen, R.G., 1998. Inactivating Microorganisms Using a Pulsed Electric Field Continuous Treatment System. *IEEE Transactions on Industry Applications* 34(1): 43-50.
- [19] Barbosa-Canovas, G.V., Gongora-Nieto, M.M., Pothakamury, U.R., Swanson, B.G., 1999. Preservation of foods with pulsed electric fields. Academic Press San Diego, USA.
- [20] Min, Z.T. Jin, Zhang, Q.H., 2003. Commercial-scale pulsed electric field processing of tomato juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3338-3344.
- [21] Töpfl, S., 2006. Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of Cell Membranes in Food- and Bioprocessing – Applications, Process and Equipment Design and Cost Analysis, Technischen Universität Berlin, Doktora tezi, s. 180.
- [22] Teissie, J., 1988. Effects of electric fields and currents on living cells and their potential use in biotechnology: a survey. *Biochemistry and Bioenergetics* 20: 133-142.
- [23] Prud Homme, G.J., Glinka, Y., Khan, A.S., Draghia, A., Akli, R., 2006. Electroporation enhanced nonviral gene transfer for the prevention or treatment of immunological, endocrine and neoplastic diseases. *Current Gene Therapy* 6: 243-273.
- [24] Benz, R., Zimmermann, U., 1980. Relaxation studies on cell membrane and lipid bilayers in the high electric field range. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 7: 723-739.

- [25] Benz, R., Conti, F., 1981. Reversible electrical breakdown of squid giant axon membrane. *Biochim. Biophys. Acta* 645: 115-123.
- [26] Mir, L.M., Banoun, H., Paoletti, C., 1988. Introduction of definite amount of nonpermeant molecules into living cells after electroporation: direct access to cytosol. *Exp. Cell Res.* 175: 15-25.
- [27] Lambert, H., Pankov, R., Gauthier, J., Hancock, R., 1990. Electroporation-mediated uptake of proteins into mammalian cells. *Biochem. Cell Biol.* 68: 729-734.
- [28] Zimmermann, U., Pilwat, G., Riemann, F., 1974. Dielectric breakdown in cell membranes. *Biophysical Journal* 14: 881-899.
- [29] Zimmermann, U., 1996. The effect of high intensity electric field pulses on eucaryotic cell membranes: fundamentals and applications. *Electromanipulation of cells*. U. Zimmermann and G. A. Neil. Boca Raton, CRC Press: 1-106p.
- [30] Tsong, T.Y., 1990. Review: On electroporation of cell membranes and some related phenomena. *Bioelectrochemistry Bioenergetics* 24: 271-295.
- [31] Tsong, T.Y., 1991. Electroporation of cell membranes. *Biophysical Journal* 60: 297-306.
- [32] Chang D.C., Reese, T.S., 1990. Changes in membrane structure induced by electroporation as revealed by rapid freezing electron microscopy. *Biophysical Journal* 58: 1-12.
- [33] Rols, M.P., 2006. Electroporation, a physical method for the delivery of therapeutic molecules into cells. *Biochim Biophys Acta* 1758: 423-428.
- [34] Abidor, I.G., Li, L.H., Hui, S.W., 1994. Study of cell pellets. I. Electrical properties and porosity. *Biophys J.* 67: 418-426.
- [35] Susil, R., Semrov, D., Miklavcic, D., 1998. Electric field-induced transmembrane potential depends on cell density and organization. *Electro. Magnetobiol.* 17: 391-399
- [36] Miklavcic, D., Beravs, K., Semrov, D., Cenaar, M., Demsar, F., Sersa, G., 1998. The importance of electric field distribution for effective in vivo electroporation of tissues. *Biophysical Journal* 74: 2152-2158.
- [37] Knorr D., Heinz V., Angerbach, A., Lee, D., 2000. Membrane permeabilization and inactivation mechanisms of biological systems by emerging technologies. *Proceedings of the eighth international congress on engineering and food* (s.15). Puebla, Mexico.
- [38] Knorr, D., Angersbach, A., 1998. Impact of high-intensity electrical field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends in Food Science and Technology* 9: 185-191.
- [39] Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G., 1995. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering* 25: 261-281.
- [40] Lebovka, N.I., Bazhal, M.I., Vorobiev, E., 2002. Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *Journal of Food Engineering* 54(4): 337-346.
- [41] Van Loey, A., Verachtert, B., Hendrickx, M., 2001. Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science and Technology* 12: 94-102.
- [42] Doevenspeck, H., 1960. Verfahren und Vorrichtung zur Gewinnung der einzelnen Phasen aus dispersen Systemen. German Patent, DE 1237541
- [43] Flaumenbaum, B.L., 1968. Anwendung der Elektroplasmolyse bei der Herstellung von Fruchtsäften. *Flüssiges Obst.* 35: 19-22.
- [44] Fincan, M., DeVito, F., Dejmek, P., 2004. Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment. *Journal of Food Engineering* 64: 381-388.
- [45] Bouzrara, H., 2001. Enhancing pressing of vegetable products by pulsed electric fields: case of sugar beet. PhD thesis, Université de Technologie de Compiègne, France.
- [46] Eshtiaghi, M.N., Knorr, D., 2000. Anwendung elektrischer Hochspannungsimpulse zum Zellaufschluss beider Saftgewinnung am Beispiel von Weintrauben. *LVT* 45: 23-27.
- [47] Lebovka, N.I., Praporscic, I., Ghnimi, S., Vorobiev, E., 2005. Does electroporation occur during ohmic heating of food. *Journal of Food Science* 70(5): 308-311.
- [48] Kraus, W., 2003. The 2002 beet campaign - VDZ Zweigverein Süd. *Zuckerindustrie* 128(5): 344-354.
- [49] Toefl, S., 2010. Food Processing by pulsed electric fields-Equipment design and commercial experience, International Pulsed Power PhD Congress Karlsruhe, Almany, 16p.