



Design and application of a multipurpose universal high voltage incubator

Murat Fidan*^{ID}, Melih Çoban^{ID}

Electrical and Electronic Engineering Department, Faculty of Engineering, High Voltage Laboratory, Bolu Abant İzzet Baysal University, Gökçöy Campus, Merkez, Bolu, 14030, Türkiye

Highlights:

- Applying high voltage to cell culture
- Providing incubator conditions
- Universal high voltage incubator

Keywords:

- Electric field
- Pulsed electric field
- Electrode systems
- Cell culture
- Incubator conditions

Article Info:

Research Article
Received: 18.04.2022
Accepted: 31.07.2023

DOI:

10.17341/gazimmfd.1105036

Acknowledgement:

This study was supported by Bolu Abant İzzet Baysal University (BAİBÜ) Scientific Research Projects (BAP) Unit. [Project Number: 2016.09.03.1003]. The authors would like to thank BAİBÜ, BAP unit.

Correspondence:

Author: Murat Fidan
e-mail: mfidan@ibu.edu.tr
phone: +90 532 732 6298

Graphical/Tabular Abstract

In scientific studies which electric fields are applied to cell cultures under incubator conditions use a commonly commercial incubator. This necessitates the use of test systems and electrodes that can fit in a ready-to-use incubator. It understood that the test systems and electrodes used in the literature are specially designed and suitable for the commercial incubator. This restriction narrows the boundaries of scientific study. In this study, a multipurpose universal high voltage incubator in Figure A, which controls temperature, humidity and CO₂ and can monitor pressure is realized. Incubator can apply AC-DC up to 100 kV_{pp} and pulse high voltages up to 11.2 kV.

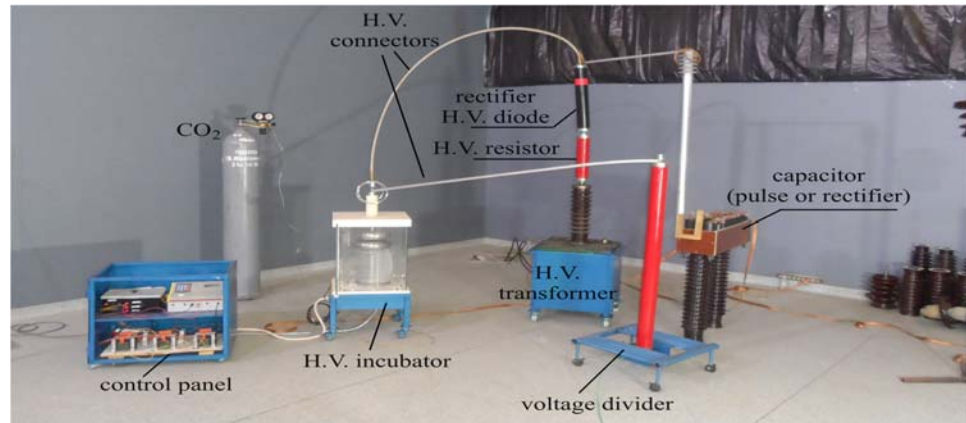


Figure A. Sample experiment connection of the high voltage incubator

Purpose:

The aim of this study is to propose an incubator model that allows the application of higher voltages to the test samples under incubator conditions, which is more flexible and has upper limits.

Theory and Methods:

7000 series hardened aluminum is used in the construction of planar and spherical electrodes types, which are recommended for application of electric fields created by high voltages to cell cultures, food samples, etc. in the laboratory environment. In order to provide incubator conditions, the data obtained from temperature, humidity and CO₂ sensors were processed with a microcontroller. The temperature was controlled via heaters, humidity was controlled via mechanical humidity nozzle and CO₂ ratio was controlled via CO₂ gas. A jacket system has been applied to reduce heat loss and increase efficiency.

Results:

As a result of the performance measurements of the prototype, it has been observed that the high voltage incubator controls the desired temperature, relative humidity and CO₂ values very quickly and stable. This shows that HVI has a very competitive with its counterparts.

Conclusion:

The high voltage incubator, developed within the scope of this study has a universal structure that can be used in the fields of medicine, biology and food. It is possible to produce electric fields by alternating voltage, direct voltage and pulse voltages via developed and proposed high voltage incubator.



Çok amaçlı bir üniversal yüksek gerilim inkübatörü tasarımı ve uygulaması

Murat Fidan*^{ID}, Melih Çoban^{ID}

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, Yüksek Gerilim Laboratuvarı, Gököy Kampüsü Merkez, Bolu, 14030, Türkiye

Ö N E Ç I K A N L A R

- Hücre kültürüne yüksek gerilim uygulanması
- İnkübatör şartlarının sağlanması
- Üniversal yüksek gerilim inkübatörü

Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi

Geliş: 18.04.2022

Kabul: 31.07.2023

DOI:

10.17341/gazimmfd.1105036

Anahtar Kelimeler:

Elektrik alanı,
darbeli elektrik alanı,
elektrot sistemleri,
hücre kültürü,
inkübatör koşulları

ÖZ

İnkübatör şartları altında elektrik alanların hücre kültürlerine uygulandığı bilimsel çalışmaların neredeyse tamamına yakınında, ticari bir inkübatörün kullanıldığı söylenebilir. Bu durum ticari bir inkübatör içine sığabilen deney sistemlerinin ve elektrotların kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, çalışmalarda kullanılan ticari inkübatör boyutlarının, test sisteminin ve elektrotlarının özel olarak tasarlanmasını zorunlu kıldığı görülmektedir. Söz konusu bu kısıtlamalar bilimsel çalışmanın sınırlarını da daraltabilmektedir. Öyle ki bilimsel çalışmada kullanılan ticari inkübatörün iç hacminin kısıtlılığından dolayı, numuneye uygulanabilen gerilim değerleri belirli bir seviyenin üzerine çıkamamaktadır. Bu çalışmada, sıcaklık nem ve CO₂ kontrollü inkübatör şartları altında hücre kültürlerine ya da gıda numunelerine 100 kV_{pp} seviyesine kadar yüksek gerilimlerin uygulanabileceği çok amaçlı üniversal bir sistem tanıtılmıştır. Sistem ayrıca 11,2 kV'a kadar darbeli elektrik alanların oluşturulmasına ve uygulanmasına imkân vermektedir. Geliştirilen ve önerilen sistem "Yüksek Gerilim İnkübatörü" olarak isimlendirilmiştir.

Design and application of a multipurpose universal high voltage incubator

H I G H L I G H T S

- Applying high voltage to cell culture
- Providing incubator conditions
- Universal high voltage incubator

Article Info

Research Article

Received: 18.04.2022

Accepted: 31.07.2023

DOI:

10.17341/gazimmfd.1105036

Keywords:

Electric field,
pulsed electric field,
electrode systems,
cell culture,
incubator conditions

ABSTRACT

It can be said that a commercial incubator is used in almost all scientific studies in which electric fields are applied to cell cultures under incubator conditions. This necessitates the use of test systems and electrodes that can fit inside a commercial incubator. For this reason, when the studies in the literature are examined, it is seen that the commercial incubator dimensions used in the studies require special design of the test system and electrodes. These restrictions can also narrow the boundaries of scientific study. Such that, due to the limitation of the internal volume of the commercial incubator used in scientific studies, the voltage values that can be applied to the sample cannot exceed a certain level. In this study, a multi-purpose universal system is introduced in which high voltages up to 100 kV_{pp} can be applied to cell cultures or food samples under temperature, humidity and CO₂ controlled incubator conditions. The system also allows the generation and application of pulsed electric fields up to 11.2 kV. The developed and proposed system is named as "High Voltage Incubator".

1. Giriş (Introduction)

Yüksek gerilim tekniği, elektrik enerjisinin üretim, iletim, tüketim vb. tüm aşamalarında kullanılmaktadır. Son dönemlerde özellikle yüksek gerilimlerin meydana getirdiği elektrik alanların gıda mühendisliği, biyoloji, tıp gibi sahalarda da kullanıldığı görülmektedir.

Gıda sektöründe termal işlem, gıdaları korumak için kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Termal işlem ile mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu sağlanabilmektedir. Fakat termal işlem aynı zamanda besin niteliklerini azaltabilirken istenmeyen kötü lezzetlerde üretebilmektedir. Gıda sektöründe mikroorganizma hücrelerinin, lezzet, renk, tat ve besin maddelerinde önemli bir kayba neden olmadan inhibe edilmesinde elektrik alanlardan faydalandığı görülmektedir [1]. Hidrofobik yapıda lipid tabakalardan meydana gelen hücre zarlarına elektrik alan uygulandığında, hücre zarında yapısal değişimler meydana gelebilmektedir. Hücre zarları, hücre sitoplazması ve hücre dışı ortam arasında yalıtım özelliği gösterdiği için yük tutabilme özelliğine sahiptir. Bu bağlamda hücre yapısı bir kondansatöre benzetilebilir. Hücreler bir elektrik alanına maruz kaldığında hücrenin içi ve dışı arasındaki potansiyel fark artışı gösterir. Bu durumda hücredeki \pm yüklü moleküller hücre zarı boyunca hareketlenerek gözenek (por) oluşumuna sebep olurlar [2]. Hücre zarında meydana gelen bu gözenekler hücre dışından hücre içine ya da hücre içinden hücre dışına madde geçişini kolaylaştırır. Kısaca hücre zarının madde geçirgenliği (permeablite) artar. Elektroporasyon olarak tanımlanan bu işlem için genellikle darbe biçimli elektrik alan (PEF) formları tercih edilmektedir [3]. Elektroporasyon ile hücre zarında oluşan gözeneklerin meydana getirdiği geçirgenlik, kalıcı veya geçici olabilmektedir. Geçici yapısal değişiklikler, hücrenin elektrik alanına maruziyeti sona erdiğinde, hücre zarının normal durumuna dönüşmesi olarak ifade edilebilir. Kalıcı yapısal değişikliklerde ise hücre zarının eski haline dönüşmesi söz konusu olmayıp, hücre canlılığı son bulabilmektedir [4, 5]. Hücre zarı yapısında meydana gelen geçirgenlik değişimi ile *Escherichia coli* [6], *Listeria innocua* [6], *Staphylococcus aureus* [7] başta olmak üzere çeşitli bakteri, mantar, spor türleri [8], mikroorganizmalar ve diğer bozucu enzimlerin istenmeyen etkileri azaltılarak gıda maddelerinin işlenmesi sağlanabilmektedir. Böylece gıdalar korunabilmekte ve raf ömürleri uzatılabilmektedir [9]. Bu bağlamda ısı yöntemlere alternatif olarak tanımlanan darbeleri elektrik alanlar gıda sektöründe kayda değer bir uygulama potansiyeline sahiptir. Literatürde, portakal suyu [10], domates suyu [11], elma suyu [12], üzüm suyu [13], çilek suyu [14], kızılıklık suyu [15], süt [16], yoğurt esaslı içecekler [17], sıvı (likt) yumurta [18], patates [19] gibi katı gıdaların, baharatların [20] ve daha birçok gıda çeşidinin işlenmesinde darbeleri elektrik alanların kullanıldığı görülmektedir.

Elektrik alanlar gıda sektörünün yanı sıra biyoloji ve sağlık alanında da oldukça geniş kullanıma sahiptir. Elektrik alan temelli biyolojik çalışmalar 1970'lere kadar uzanmaktadır [21, 22]. Elektrik alanların hücre üzerindeki etkileri kırmızı kan hücreleri (eritrosit) [23], lipidler [24], balık yumurtası (fish egg) [25], sığır kromafin hücreleri [21], *Escherichia coli* bakterileri [22], ökaryotik mikroorganizmalar (*Dictyostelium discoideum*) [26], *Valonia Utricularis* gibi deniz yosunları [27] ve farklı ilaç geliştirme çalışmalarında [28] başarıyla kanıtlanmıştır. Tıpkı gıda alanındaki çalışmalara benzer olarak tıp ve biyoloji alanındaki çalışmaların çoğunda, yüksek gerilimlerin meydana getirdiği darbe şekilli elektrik alanlardan faydalanılmaktadır. Darbe şekilli elektrik alanların kullanımı ile hücre zarlarında madde geçişini etkileyen geçici kofulların oluşumu sayesinde hücre zarı (membran) geçirgenliği artırılabilmektedir. Söz konusu geçirgenliğin, bazı şartlarda geri dönüşümlü, bazı şartlarda da geri dönüşümsüz olması sağlanabilmektedir [29]. Hücre zarında meydana gelen geçici iletkenlik artışları, hücre içine sokulmak

istenilen madde ya da farklı yapıların miktarını arttırılabilmektedir. Böylece kanser gibi hastalıklarda kullanılan antikanser ilaçların etkinliği artırılırken ilaç kullanım miktarı da azaltılabilmektedir. Tıp alanında hepatosellüler karsinom kanser hücreleri [30], melonoma kanser hücreleri [31], kemik kanser hücreleri [32, 33] kullanılarak, elektroporasyon çalışmaları yapılmıştır. Elektroporasyon yöntemi sayesinde kas, tümör, karaciğer, deri hücrelerinin geçirgenliğinin artırılması ile hücre zarının içine ya da dışına doğru DNA göçü elektroporatif olarak desteklenebilmektedir [5]. Bu bakımdan elektrik alanlar yardımıyla gen transferi gibi işlemlerde önemli kolaylıklar sağlanabilmektedir. Bu alanda hücre içine DNA transferi çalışmaları 1980'lerde fare hücreleri (fare lyoma hücresinde) ile başlamıştır [4]. Günümüzde de deney hayvanları modelleri ve klinik çalışmalarla gelişimi devam etmektedir [34].

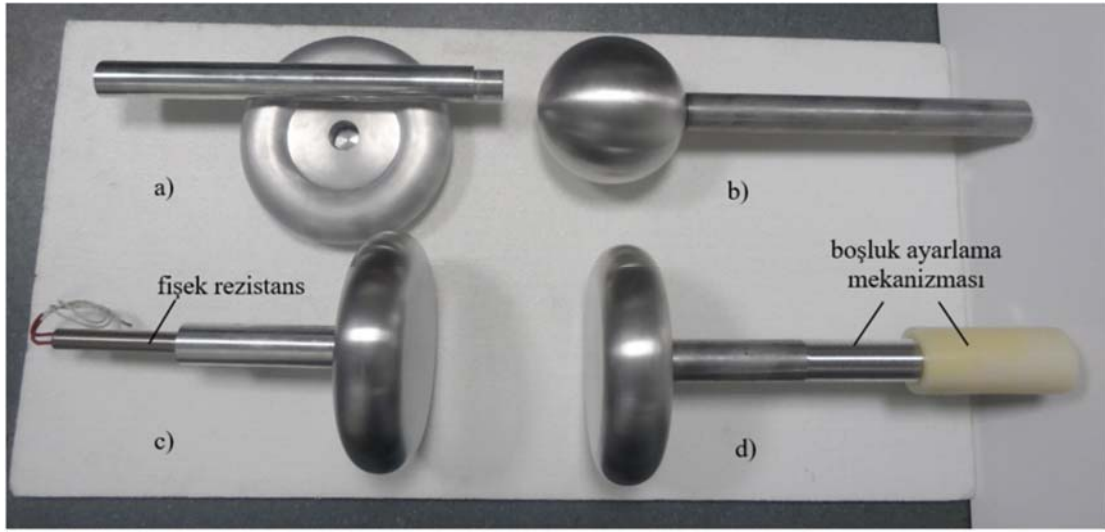
Elektrik alanların gıda maddelerinin işlenmesinde kullanıldığı farklı yapıda haznelere literatürde tanıtılmıştır. Bu haznelerin, gıda maddelerinin içine yerleştirildiği yalıtkan bölümler ile elektrik alanı oluşturan elektrotlardan meydana geldiği görülmektedir. Kullanılan elektrot şekilleri, paralel düzlemsel [35, 36], tübüler [37], dairesel [13], silindirik eş merkezli (koaksiyel) [20] yapılarına sahip olabilmektedir. Gıda işleme hazneleri literatürde durağan (sabit) ve sürekli (dinamik) olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir [38,39]. Durağan haznelerde gıda maddesi elektrotlar arasında sabit biçimde kalmakta ve elektrik alan, gıda maddesine dik biçimde uygulanmaktadır. Düzlemsel yapıya sahip elektrotlar sınırlı miktarda gıda maddesi işleme kapasitesine sahip olup genelde laboratuvar araştırmalarında sık tercih edilmektedir. Sürekli yapıdaki haznelerde gıda maddesi akışkan biçimde olup, elektrotlar arasında akmaktadır. Durağan haznelere farklı olarak daha fazla miktarda gıda maddesi, elektrik alanlar yardımıyla işlenebildiğinden dolayı bu yöntem ticari uygulamalarda tercih edilmektedir. Sürekli haznelere gıda maddesine elektrik alanların dik olarak uygulandığı eş eksenli ve elektrik alanların paralel olarak uygulandığı eş alanlı yapılar şeklinde iki ana grup altında incelenmektedir [38, 39]. Diğer taraftan, biyoloji ve sağlık alanlarında yapılan araştırmalarda çoğunlukla durağan sistemlerden faydalanılmaktadır. Literatürdeki durağan sistemlerde tercih edilen haznelerin elektrot yapıları ise genel olarak düzlemsel elektrotlardan meydana gelmektedir [32, 40].

Tıp, biyoloji ve gıda bilimlerine ilişkin literatür genel olarak tarandığında yüksek gerilimlerin meydana getirdiği elektrik alanların, hücre kültürü, gıda numunesi vb. materyallere uygulandığı çok sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmaların önemli bir kısmında da [32, 40–42] numunelere kontrollü şartlar altında elektrik alanlar uygulandığı anlaşılmaktadır. Genel olarak bu çalışmalarda kontrollü ortamların sağlanması için ticari inkübatörlerin tercih edildiği söylenebilir. Fakat deney numunelerine inkübatör şartları altında yüksek gerilim uygulanabilmesi için çalışmalarda kullanılan ticari inkübatörlerin modifiye edildiği görülmektedir. Bu modifikasyonlar sayesinde ticari inkübatörlerin içindeki deney numunelerine yüksek gerilimler uygulanabilmekte fakat uygulanan gerilim seviyeleri kısıtlı olmaktadır. Bu çalışmada, inkübatör şartları altında elektrik alan uygulamaları için düşük maliyetli, çok amaçlı bir yüksek gerilim inkübatörü (YGİ) tasarımı ve prototip uygulaması tanıtılmıştır. Prototip sisteme alternatif ve doğru gerilim olarak 100 kV'a kadar gerilim uygulanabilmektedir. Ayrıca PEF uygulamaları için frekansı ve süresi ayarlanabilen, darbe genlikleri 11,2 kV'a kadar olan, darbe gerilim üretici tasarlanmış ve uygulanmıştır. Deney ortamının inkübatör koşullarına getirilmesi amacıyla sıcaklık, nem ve CO₂ ölçümü ve kontrolü yapılabilmektedir. Ek olarak inkübatörün basıncı da takip edilebilmektedir. Ayrıca değiştirilebilir yapıya sayesinde inkübatör düzlemsel ve küresel elektrot tipleriyle çalışabilme olanağı sunmaktadır.

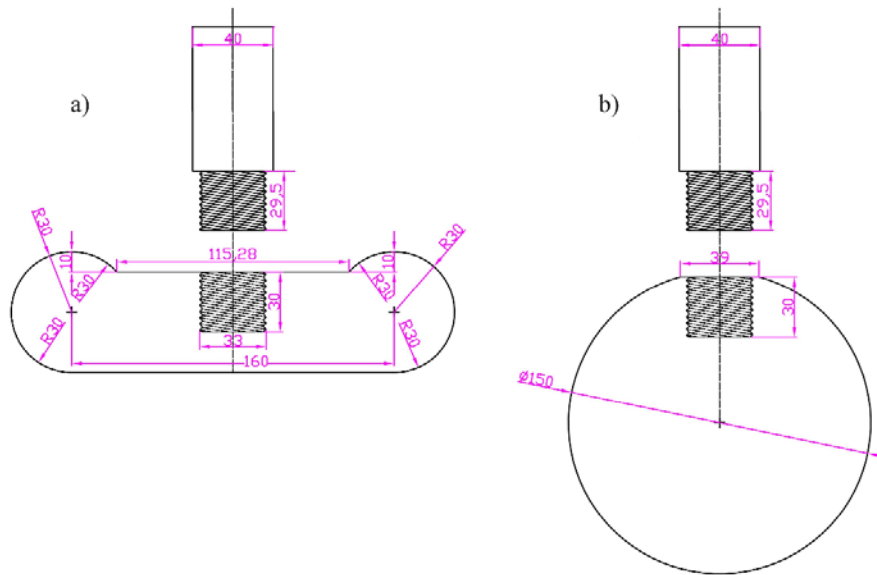
2. Materyal ve Metot (Material and Method)

Geliştirilen YGİ'nin, tıp ve biyoloji laboratuvarlarında hücre kültürleri için, gıda laboratuvarlarında gıda numuneleri için geniş kullanıma sahip, üniversal bir hazne ve elektrot yapısına sahip olması düşünülmüştür. Özellikle hücre kültürü çalışmalarında, kültürlerin uzun süreli, inkübatör ortamının dışına çıkarılarak elektrik alanlara maruz bırakılması, hücre kültürlerinde istenmeyen bozulmalara neden olabilir. Böyle bir durumda bilimsel çalışma sonuçları yanıltıcı olabilir. Bu nedenle hücre kültürü çalışmaları için kültür numunesinin inkübatör şartları altında test edilmesi önemli bir gereksinimdir. Özellikle insan hücresi numunelerinin ortalama 37°C sıcaklık ve %5 CO₂ altında tutulması hücre kültürlerinin sağlıklı üremesi açısından çok önemlidir [43, 44]. Çalışma kapsamında geliştirilen YGİ, hücre kültürleri için inkübatör şartları sağlarken eş zamanlı olarak yüksek gerilim uygulama imkânı da tanımaktadır. Bu nedenle YGİ'nin sıcaklığı, (oda sıcaklığı) 25°C ile 50°C arasında kontrol

edilebilmektedir. YGİ'nin istenilen sıcaklığa hızlı biçimde getirilebilmesi için elektrotların yapımında yüksek ısı iletimi sağlayan bir metal olan alüminyum tercih edilmiştir. Elektrotların yapımında kullanılan 7000 serisi, alaşımli sert alüminyum malzeme ile elektrotların dayanıklılığı da artırılmıştır. Bilimsel çalışmaların amacına göre değiştirilebilir mekanizmaya sahip bir elektrot yapısı tasarlanmıştır. Elektrotlar Şekil 1a'da görüldüğü gibi sap ve gövde olmak üzere ayrılabilir iki parçadan oluşmaktadır, parçalar dişli olup birbirlerine monte edilebilmektedir. Elektrot tipi olarak bilimsel çalışmalarda çok sık tercih edilen, Şekil 1c ve Şekil 1d'deki düzlemsel elektrot tipi (plate to plate) tercih edilmiştir [35, 36, 45]. Düzlemsel elektrotta ek olarak Şekil 1b'de bir örneği verilen, farklı çaplarda küre-düzlem elektrotlarda yapılmıştır. Tüm elektrotlar ve sapları birbirine uyumlu olduğu için, sistemin tamamı sökülmeden basit bir biçimde elektrotlar değiştirilebilmektedir. Çalışma için tasarlanan temel elektrot ölçüleri Şekil 2'de verilmiştir. Elektrotlar CNC tornada işlenmiştir.



Şekil 1. (a) Düzlemsel elektrot parçaları, (b) Küresel elektrot parçaları, (c) Düzlemsel alt elektrot ve ısıtıcı, (d) Düzlemsel üst elektrot ve boşluk ayar mekanizması ((a) Planar electrode parts, (b) Spherical electrode, (c) Lower planar electrode with heater, (d) Upper planar electrode with distance adjustment mechanism)



Şekil 2. (a) Düzlemsel elektrot (b) Küresel elektrot, ölçüleri ((a) Planar electrode (b) Spherical electrode, dimensions)

ve 5 mm kalınlığında şeffaf polimetil metakrilat esaslı (plexiglass) bir silindirden yapılmış iç katmandır. Polimetil metakrilat (PMMA), yüksek özelliklere sahip amorf bir termoplastik polimer olup yüksek mukavemete sahiptir. PMMA aynı zamanda, ısıyı daha az ileten ve kimyasal etkilere karşı yüksek dirençli bir malzemedir. Bu nedenle ısı yalıtım görevini iyi biçimde yerine getirebilirken, şeffaf yapısı deneyler sırasında inkübatörün dışarıdan gözlemlenebilmesine olanak sağlamaktadır [46]. Bu özelliklerinden dolayı uçak pencerelerinde, sportif aktivitelerde koruma amaçlı, güneş panellerinde [47], diş hekimliği [48] ve tıp alanındaki [49] sağlık çalışmalarında sık tercih edilebilmektedir. YGİ'nin ısı yalıtım verimini artırmak için silindir şeklindeki PMMA katmanının etrafına cam malzemeden ikinci bir katman daha yapılmıştır. İki katman arasında kalan hava tabakası ilk katman için bir ceket görevi görmektedir, böylece ısı kaybı azaltılarak yalıtım verimi artırılmıştır. Topraklanmış alt elektrota yerleştirilen fişek ısıtıcıya ek olarak iç katmanı ısıtan bir iç ısıtıcı ve dış katmanı ısıtan bir ceket ısıtıcısı sıcaklık kontrolü için kullanılmıştır. Sistemin genel yapısı Şekil 4'te sunulmuştur.

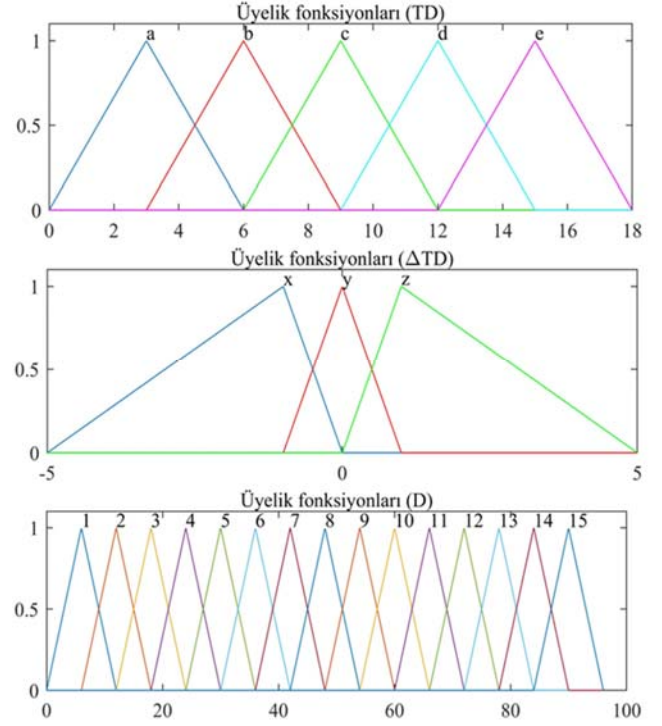
YGİ'nin sıcaklık kontrolü, dinamik değişkenler bulundurması nedeniyle, bulanık mantık yöntemi kullanılarak mikrodenetleyici yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık kontrolünün gerçekleştirilmesi amacıyla 2 adet giriş ve 1 adet çıkış değişkeni belirlenmiştir. "TD" ve " Δ TD" değerleri giriş değişkeni olarak atanmıştır. TD, istenilen sıcaklık değeri ve ölçülen sıcaklık değeri arasındaki farkı ifade etmektedir. Δ TD, bir önceki TD ile şimdiki TD arasındaki farkı ifade etmektedir.

Çıkış değişkeni "D" olarak atanmıştır. "D", ısıtıcıların çektiği akımı kontrol eden Mosfet transistörün anahtarlama sinyalinin görev döngüsünü belirlemektedir. Giriş ve çıkış değişkenleri için üçgen tipi üyelik fonksiyonları tercih edilmiştir. Üçgen tipi üyelik fonksiyonları, uygulama kolaylığı ve daha az parametre ile ifade ediliyor olmaları sebebiyle tercih edilmiştir. Şekil 5'te giriş ve çıkış değerleri için üyelik fonksiyonları gösterilmiştir. Yüksek gerilim inkübatörü üzerinde yapılan ısıtma çalışmalarına bağlı olarak bir kural tablosu oluşturulmuştur ve Tablo 1'de verilmiştir. Bulanık mantık denetleyicisinden alınan bilgi, durulama işlemi ile sayısal bir değere dönüştürülmektedir. Durulama işlemi için, ağırlık merkezi yöntemi tercih edilmiştir.

İnkübatör şartlarının sağlanabilmesi için CO₂ ve bağıl nem kontrolüne gereksinim vardır, bu nedenle CO₂ ve bağıl nem miktarlarının kontrolü gerçekleştirilmiştir. Deney ortamı için tercih edilen bağıl nem oranı, mekanik bir nem nozülü yardımıyla sağlanmaktadır. Nozul tarafından üretilen su buharı bir boru kanalıyla inkübatör iç ortamına aktarılmaktadır. Bağıl nem oranı, SHT 11 sıcaklık ve nem sensörü yardımıyla ölçülen verilerin mikrodenetleyici tarafından işlenmesi ve yine mikrodenetleyici ile nem nozulünün kontrol edilmesi sayesinde ayarlanmaktadır. Normal hava ortamındaki CO₂ değeri yaklaşık olarak 300-500 ppm civarındadır. Bu değer üzerinde talep edilen CO₂ miktarları için, inkübatör iç ortamına CO₂ gazı enjekte edilebilmektedir. Analiz raporuna sahip (Rapor No: 20230330_032) bir CO₂ gazı ile ölçüm doğruluğu sağlanmış MQ 135 sensöründen alınan veriler mikrodenetleyicide işlenerek inkübatör için CO₂ değeri ölçülmekte ve yine mikrodenetleyici yardımıyla bir selenoid valf kontrol edilerek inkübatör ortamının CO₂ miktarı ayarlanabilmektedir.

Darbe gerilimi üreticileri, yüksek değerli kısa süreli elektrik darbeleri üreten yapılardır. Elektrik alan uygulamalarında darbe şekli, süresi ve genliği büyük önem taşımaktadır. Hedeflenen işleme bağlı olarak tercih edilen darbeye ilişkin parametreler ayarlanarak darbeler üretilmektedir. Bu çalışma kapsamında darbe genliği ve frekansı ayarlanabilen bir kare dalga darbe üretici gerçekleştirilmiştir. Darbe gerilim üreticinde kullanılan prensip devre şeması [50] Şekil 6'da

paylaşmıştır. Söz konusu darbe gerilimi üretici yüksek V_{ds} (Drain – Source Voltage) değerine sahip mosfet veya IGBT'lerin seri olarak birbirine bağlanması temeline dayanmaktadır. V_{DS} değeri mosfet transistörün drain ve source bacağı arasındaki gerilimi ifade etmektedir. Kullanılan yapıda seri mosfet transistörlerin her birine paralel olarak bir direnç bağlanmaktadır. Mosfetler kesimde iken güç kaynağından gelen akım bu dirençler üzerinden akmaktadır. Darbe gerilim üreticisine ilişkin detaylı bilgiye [50,51] nolu kaynaklardan erişilebilir.



Şekil 5. Sıcaklık kontrolünde kullanılan üyelik fonksiyonları (Membership functions used in temperature control)

Tablo 1. Sıcaklık kontrolünde kullanılan kural tablosu (Rule table used in temperature control)

Δ TD/TD	X [-5 -1 0]	Y [-1 0 1]	3-3-Z [0 1 5]
A [0 3 6]	Mf3 [12 18 24]	Mf1 [0 6 12]	Mf2 [6 12 18]
B [3 6 9]	Mf6 [30 36 42]	Mf4 [18 24 30]	Mf5 [24 30 36]
C [6 9 12]	Mf9 [48 54 60]	Mf7 [36 42 48]	Mf8 [42 48 54]
D [9 12 15]	Mf12 [66 72 78]	Mf10 [54 60 66]	Mf11 [60 66 72]
E [12 15 18]	Mf15 [84 90 96]	Mf13 [72 78 84]	Mf14 [78 84 90]

3. Sonuçlar ve Tartışmalar (Results and Discussions)

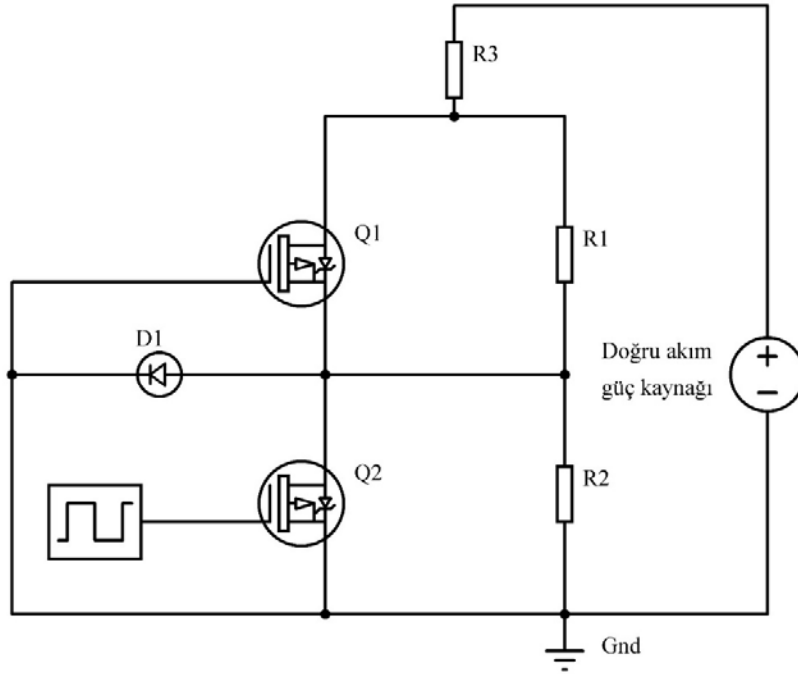
Bu çalışma kapsamında geliştirilen YGİ, tıp, biyoloji ve gıda alanlarında kullanılabilecek universal bir yapıya sahiptir. Geliştirilen YGİ ile alternatif gerilim, doğru gerilim ve darbe gerilimlerinin meydana getirdiği elektrik alanlar üretilebilmektedir. Uygulamalı çalışmalarda YGİ'ne 100 mm elektrot açıklığında, alternatif gerilimde 100 kV_{pp}, doğru gerilimde 100 kV sınırına kadar gerilim uygulanmıştır. Fakat uygulanan gerilimler sırasında inkübatör elektrotlarının arasında herhangi bir deney numunesi yerleştirilmemiştir. Elektrotlar arasına yerleştirilen, deney

numuneleri, petri kapları vb. elektrik alan dağılımını bozabileceği için, elektrotlar arasında ani boşalmaların meydana gelebileceği dikkate alınmalıdır. Benzer olarak inkübatör sıcaklığı, nem miktarı ve basınç gibi unsurlar delinme gerilimini etkileyen faktörler arasındadır [52]. Çalışmada, farklı periyod ve genliklere ayarlanabilme özelliği göz önünde bulundurularak 11,2 kV genliğe ve 50 μ s darbe genişliğine sahip bir darbe gerilim üretici gerçekleştirilmiştir. Elektrotlar arasındaki elektrik alan şiddeti 11,2 kV/cm değerine ayarlanarak uygulamalar yapılmıştır. Bu uygulamalardan elde edilen darbe geriliminin şekli Şekil 7'de paylaşılmıştır. Şekil 7'de verilen darbe gerilimi 1/1000 oranına sahip gerilim bölücü yardımıyla ölçülmüştür. Şekil 8'de geliştirilen YGİ'nin deney bağlantı sistemi örneği görülmektedir.

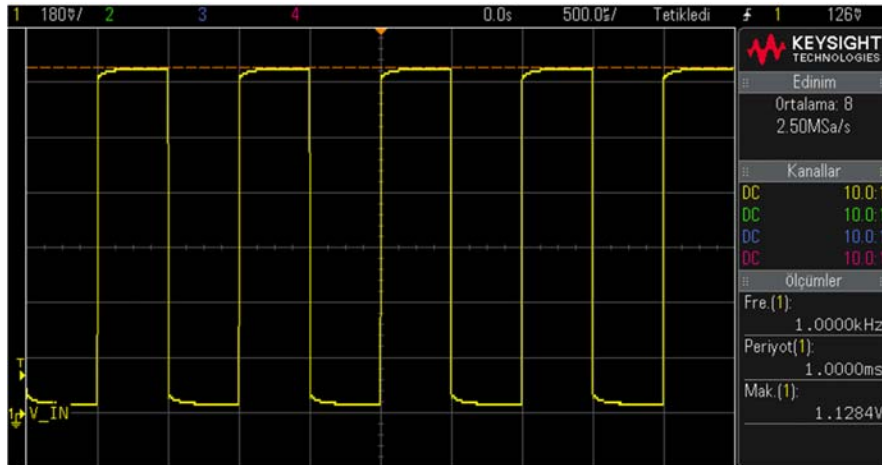
Yüksek gerilim elektrotları arasında meydana gelen elektrik alan dağılımı, elektrotların geometrik boyutlarına, şekline ve elektrotlar arasında bulunan numune türüne bağlı olarak farklılık

gösterebilmektedir [53]. Elektrik alan dağılımları sonlu elemanlar yöntemini kullanan yazılımlar ile analiz edilebilmektedir [54, 55]. Çalışmada kullanılan elektrotların gerçek geometrik boyutları ve şekilleri kullanılarak, elektrotlar arasında meydana gelen elektrik alan dağılımları ANSYS Electronics programı yardımıyla analiz edilmiştir. 100 kV_{pp} gerilimde ve 4 cm elektrot açıklığında farklı elektrot türleri ve kombinasyonları için örnek analiz sonuçları Şekil 9'da verilmiştir.

Şekil 9'da verilen küre-küre elektrot sistemi incelendiğinde elektrotların birbirine en yakın olan uç kısımlarında elektrik alan yoğunlaşmasının meydana geldiği görülmektedir. Bu durumda küre-küre elektrot sistemleri arasında meydana gelen elektrik alanın her yerde homojen dağılmadığı söylenebilir. Küre-düzlem elektrot sisteminde ise küresel elektrot üzerinde elektrik alan yoğunlaşması meydana geldiği için elektrotlar arasındaki elektrik alanın yine her yerde homojen olmadığını söylemek mümkündür. Düzlem-düzlem



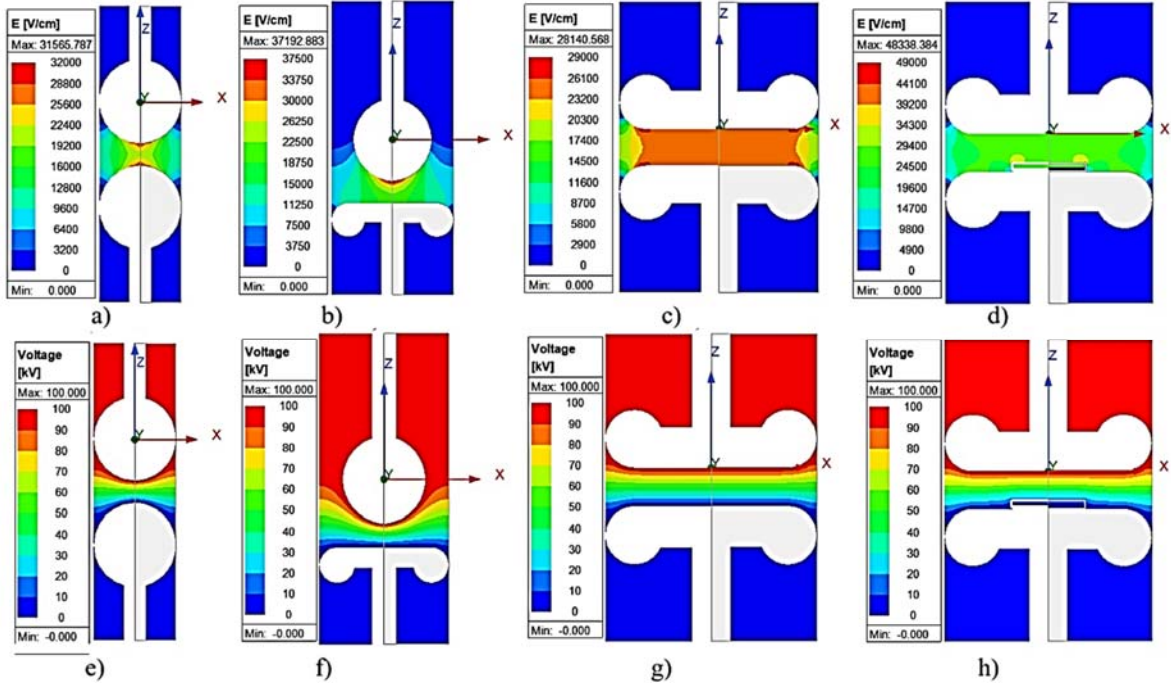
Şekil 6. Yüksek gerilim darbe üretici prensip şeması (Principle diagram of high voltage pulse generator) [50].



Şekil 7. İki MOSFET için darbe üretici çıkışı (prop çarp.: 1/10) (Pulse generator output for two MOSFET-(prob. mult.: 1/10))



Şekil 8. Yüksek gerilim inkübatörü bağlantı örneği (High voltage incubator connection example)



Şekil 9. 100 kV_{pp} AA'da ve 4cm elektrot açıklığında (a) küre-küre (b) küre-düzlem (c) düzlem-düzlem (d) arasında numune bulunan düzlem-düzlem elektrotlarda meydana gelen elektrik alan dağılımları ve (e) küre-küre (f) küre-düzlem (g) düzlem-düzlem (h) arasında numune bulunan düzlem-düzlem potansiyel dağılımları

(Electric field distributions (a) sphere-sphere (b) sphere-plane (c) plane-plane (d) plane-plane with sample and potential distributions (e) sphere-sphere (f) sphere-plane (g) plane-plane (h) plane-plane with sample occurring at 100 kV AC and 4 cm gap)

elektrot sisteminde elektrot kenarlarında elektrik alan yoğunlaşması meydana gelmesine rağmen elektrotlar arasındaki bölgede elektrik alanın büyük oranda homojen dağıldığı gözlenmektedir. Son olarak düzlem elektrotlar arasına numune yerleştirilmesi durumunda oluşabilecek elektrik alan dağılımı incelenmiştir. İnceleme sonuçlarına bağlı olarak numune uçlarında elektrik alan şiddetinin arttığı gözlenmekte olup, elektrotlar arasında kalan diğer kısımlarda

ise elektrik alan dağılımının nispeten homojen olduğu ifade edilebilir. Elektrik alanların kullanıldığı gıda disiplinine [15, 35, 36], tıp ve biyoloji disiplinlerine [21, 24, 30] ait literatür çalışmaları incelendiğinde, düzlemsel elektrotların daha sık tercih edildiği görülmektedir. Literatürdeki çalışmalarda kullanılan elektrotların bakır [56], grafit [24], karbon [8], alüminyum [30], pirinç [35], platin [21], paslanmaz çelik [31, 36, 57] gibi farklı materyallerden yapılmış

olduğu görülmektedir. Diğer taraftan deney numunesine düzgün elektrik alan uygulanmak istenmesi durumunda, en doğru elektrot seçeneğinin paralel düzlemsel elektrot yapısı olduğu bilinmektedir. Yalnız elektrot aralığının elektrot yüzey boyutlarından yeteri kadar küçük bir değere ayarlanmış olmasına dikkat edilmelidir. Elektrotların kenar etkilerini minimize etmek için de disk şekilli yani kenarları yuvarlatılmış elektrotların tercih edilmesi daha doğru bir seçenek olacaktır [38]. Bu bağlamda geliştirilen YGİ'de kenar etkileri azaltılmış, paralel düzlemsel sisteme uygun disk elektrot (Şekil 1c-Şekil 1d) yapısı tercih edilmiştir. Ayrıca önerilen küre-düzlem elektrot sistemi (Şekil 1b) ile de farklı elektrik alan formlarında çalışmaların yapılabilmesi mümkün olacaktır. Elektrotların numune ile temas etmeyeceği çalışmalar için iyi bir ısı transferi sağlayan alaşımli alüminyum önerilmiştir. Elektrot ile numunenin direk temas edeceği çalışmalar için ise sterilizasyonu kolaylaştırması açısından paslanmaz çelik ve alüminyumun birlikte kullanıldığı hibrit bir elektrot yapısı (Şekil 3) önerilmiştir.

Deneysel çalışmaların güvenilirliği açısından, sıcaklık kontrolü önemli bir parametredir. Literatürde, elektrik alanların kullanıldığı bilimsel çalışmaların önemli bir kısmında deneylerin belirli ve sabit bir sıcaklık değerinde gerçekleştirildiği görülmektedir. Farklı çalışmalarda kullanılan bazı sabit sıcaklık değerleri Tablo 2'de paylaşılmıştır. Ticari inkübatörlerin hücre saklama koşullarına gelebilmesi için, 12-24 saat önceden çalıştırılmaya başlaması en önemli dezavantajlarından birisidir. Çalışma kapsamında geliştirilen inkübatör yapısında ceket sistemi kullanılması ve katmanlar arasının çift ısıtıcı ile kontrol edilmesi çalışma sıcaklığına çok hızlı erişim olanağı sağlamaktadır. Ayrıca elektrot materyali olarak alüminyumun tercih edilmesi ve fişek ısıtıcı ile alüminyum elektrotların ısıtılması hızlı ve kararlı sıcaklık kontrol özelliği sağlamaktadır. Bu bağlamda çalışma kapsamında önerilen YGİ yapısının bilimsel çalışmalarda tercih edilebilir olacağı düşünülmektedir.

Tablo 2. Literatürdeki sabit sıcaklık değer örnekleri
(Examples of constant temperature values in the literature)

Sıcaklık	15°C	20°C	25°C	37°C
Kaynak	[36]	[15,35,57,58]	[4,30,59,60]	[32,33,40,61]

İnkübatör şartları altında hücre kültürlerine yüksek gerilimler uygulanırken, çeşitli kısıtlılıklar ön plana çıkabilmektedir. Özellikle ticari bir inkübatör içine yerleştirilen deney sistemlerinde, inkübatör gövdesine istenmeyen bir boşalmanın önüne geçmek için gerilim seviyeleri oldukça düşük seçilmek zorundadır. Bu durum, çalışılmak istenilen elektrik alan şiddetini kısıtlamaktadır. Çalışma kapsamında geliştirilen YGİ ile düzlemsel elektrotlara 100 kV_{pp}'a kadar gerilimin uygulanması mümkündür. Elektrik alan dağılımını değiştiren deney numunesi, YGİ sıcaklığı, nem ve basınç gibi faktörlerin delinme dayanımını değiştirebileceği dikkate alınmalıdır [46, 52].

Özellikle hücre kültürü/gıda numunesi ve yüksek gerilimlerin meydana getirdiği elektrik alanların beraber kullanıldığı bilimsel çalışmalarda, yüksek gerilimlerin inkübatör şartlarında hücre kültürlerine uygulanması önem taşımaktadır. Bu açıdan bakıldığında yüksek gerilimlerin inkübatör şartları altında hücre kültürlerine [32, 40, 41] ya da gıda numunelerine [42, 58] uygulandığı literatür çalışmalarının sınırlarını, ticari inkübatör boyutları belirlemektedir. Hatta bu çalışmaların bazılarında, deneysel çalışmaların gerçekleştirilebilmesi için ticari inkübatörlerin iç hacimlerinde modifikasyonlar yapıldığı [32, 40-42] anlaşılmaktadır. Çalışma kapsamında geliştirilen YGİ yapısal bir değişikliğe maruz bırakılmadan, hücre kültürlerine ya da gıda numunelerine inkübatör şartları altında elektrik alanların uygulanabileceği bir yapıya sahiptir.

Bilimsel çalışmalar sırasında yüksek gerilimlerin meydana getirdiği elektrik alanların hücre kültürü, gıda kültürü vb. numunelere uygulanmasında, farklı şekil ve yapıdaki elektrot tipleri kullanılabilir. İnkübatör şartları altında elektrik alanların hücre

kültürlerine uygulandığı bilimsel çalışmaların neredeyse tamamına yakınında, ticari bir inkübatörün kullanıldığı söylenebilir. Bu durum ticari bir inkübatör içine sığabilen deney sistemlerinin ve elektrotların kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle literatürdeki çalışmalar genel olarak incelendiğinde, çalışmada kullanılan ticari inkübatör boyutlarının, test sistemini ve elektrotlarını özel olarak tasarlanmak zorunda bıraktığı görülmektedir. Söz konusu bu kısıtlama bilimsel çalışmanın sınırlarını da daraltabilmektedir. Öyle ki bilimsel çalışmada kullanılan ticari inkübatörün iç hacminin kısıtlılığından dolayı, numuneye uygulanabilen gerilim değerleri belirli bir seviyenin üzerine çıkamamaktadır. Tablo 3'de önerilen YGİ ile literatürdeki bazı çalışmaların uygulanabilir maksimum gerilim seviyeleri verilmiştir. Bu bağlamda geliştirilen ve önerilen YGİ yapısı sayesinde, uygulanabilen gerilim seviyesinin sınırları arttırılmıştır.

Tablo 3. Uygulanabilir gerilim seviyelerinin karşılaştırılması
(Comparison of applicable voltage level)

Kaynak	Gerilim Seviyesi
[41]	3 kV
[42]	20 kV _{pp}
[40]	1.6 kV
[32]	1 kV
Önerilen	100 kV _{pp}

4. Sonuçlar (Conclusions)

Bu çalışmada, elektrik alan uygulamaları için düşük maliyetli, çok amaçlı bir yüksek gerilim inkübatörü tasarımı ve prototip uygulaması tanıtılmıştır. Tanıtılan inkübatör yapısı ile alternatif ve doğru gerilimler altında 100 kV_{pp} seviyesine kadar çıkabilmesi mümkündür. Ek olarak 11,2 kV genliğe ve çeşitli frekanslara kadar olan PEF uygulamaları için, bir darbe gerilim üretici de önerilmiştir. Önerilen YGİ'da kullanılan bulanık mantık tabanlı mikrodenetleyici yardımıyla deney ortamının sıcaklık, bağıl nem ve CO₂ değerleri kontrol edilebilmekte ve ortam basıncı gözlemlenebilmektedir. YGİ'nin düzlemsel elektrotları arasındaki elektrik alan dağılımlarının yaklaşık homojen olarak elde edilebildiği, benzetimler yardımıyla gösterilmiştir. Böylece literatürdeki mevcut elektrik alan ve hücre kültürü çalışmalarının sınırlı seviyelerde kalan gerilim seviyeleri, önerilen inkübatör yapısı sayesinde arttırılmıştır. Bu bağlamda, önerilen sistem, yaklaşık homojen elektrik alanların hücre kültürü üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar için, referans olarak kullanılabilirliği mümkündür.

Performans ölçümleri sonucunda YGİ'nin istenilen sıcaklık, bağıl nem ve CO₂ değerlerini çok kararlı ve hızlı bir şekilde kontrol ettiği gözlemlenmiştir. Bu da önerilen YGİ'nin muadilleri ile rekabet edebileceğini göstermektedir. Hücre kültürü ve elektrik alanların bir arada kullanıldığı bilimsel çalışmalar her geçen gün çoğalmaktadır. Bu nedenle elektrik alanlarının daha geniş limitlerde ve esnek bir şekilde uygulandığı sistemlere olan ihtiyaçlar da artmaktadır. Gelecekteki bir çalışma olarak, YGİ'nin geliştirilen bu yeni versiyonu ile çeşitli hücre kültürü ve elektrik alanları arasındaki ilişkinin derinlemesine bir analizinin yapılması amaçlanmaktadır.

Teşekkür (Acknowledgement)

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi (BAİBÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından desteklenmiştir. [Proje No: 2016.09.03.1003]. Yazarlar BAİBÜ, BAP birimine teşekkürlerini sunar.

Kaynaklar (References)

- Lasekan O, Ng S, Azeez S, Shittu R, Teoh L, Gholivand S., Effect of Pulsed Electric Field Processing on Flavor and Color of Liquid Foods, J. Food Process. Preserv., 41 (3), 1-14, 2017.
- Alaaddin C., Elektroporasyon Yöntemiyle Melanoma Tedavisinde Kullanılan Dakarbazinin Sitotoksitesinin Arttırılması Üzerine

- Çalışmalar, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 23, 2017.
3. Qin B-L, Zhang Q, Barbosa-Canovas G V., Swanson BG, Pedrow PD., Inactivation of Microorganisms by Pulsed Electric Fields of Different Voltage Waveforms, *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, 1 (6), 1047–1056, 1994.
 4. Neumann E, Schaefer-Ridder M, Wang Y, Hofschneider PH., Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields, *Embo J.*, 1 (7), 841–845, 1982.
 5. André FM, Gehl J, Sersa G, Prétat V, Hojman P, Eriksen J et al., Efficiency of high and low voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle, liver, tumor, and skin., *Hum. Gene Ther.*, 19 (11), 1261–1271, 2008.
 6. Mok JH, Pyatkovskyy T, Yousef A, Sastry SK., Synergistic effects of shear stress, moderate electric field, and nisin for the inactivation of *Escherichia coli* K12 and *Listeria innocua* in clear apple juice, *Food Control*, 113 (2020), 1–9, 2020.
 7. Freire V, Lattanzio G, Orea I, Mañas P, Cebrián G., Component release after exposure of *Staphylococcus aureus* cells to pulsed electric fields, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 74 (2021), 1–13, 2021.
 8. Grahl T, Märkl H., Killing of Microorganisms by Electric Field, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45 (1–2), 148–157, 1996.
 9. Min S, Evrendilek GA, Zhang HQ., Pulsed electric fields: Processing system, microbial and enzyme inhibition, and shelf life extension of foods, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 35 (1), 59–73, 2007.
 10. Olmedilla-Alonso B, Granado-Lorencio F, de Ancos B, Sánchez-Moreno C, Martín-Belloso O, Blanco I et al., Greater bioavailability of xanthophylls compared to carotenes from orange juice (high-pressure processed, pulsed electric field treated, low-temperature pasteurised, and freshly squeezed) in a crossover study in healthy individuals, *Food Chem.*, 371 (2022), 1–8, 2022.
 11. Andreou V, Dimopoulos G, Dermesonlouoglou E, Taoukis P., Application of pulsed electric fields to improve product yield and waste valorization in industrial tomato processing, *J. Food Eng.*, 270 (2020), 1–13, 2020.
 12. Wibowo S, Essel EA, De Man S, Bernaert N, Van Droogenbroeck B, Grauwet T et al., Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 54 (2019), 64–77, 2019.
 13. Wu Y, Mittal GS, Griffiths MW., Effect of pulsed electric field on the inactivation of microorganisms in grape juices with and without antimicrobials, *Biosyst. Eng.*, 90 (1), 1–7, 2005.
 14. Yildiz S, Pokhrel PR, Unluturk S, Barbosa-Cánovas G V., Shelf life extension of strawberry juice by equivalent ultrasound, high pressure, and pulsed electric fields processes, *Food Res. Int.*, 140 (2021), 1–11, 2021.
 15. Gupta B Sen, Masterson F, Magee TRA., Inactivation of *E. coli* in cranberry juice by a high voltage pulsed electric field, *Eng. Life Sci.*, 5 (2), 148–151, 2005.
 16. Yang S, Suwal S, Andersen U, Otte J, Ahrné L., Effects of pulsed electric field on fat globule structure, lipase activity, and fatty acid composition in raw milk and milk with different fat globule sizes, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 67 (2021), 1–11, 2021.
 17. Evrendilek GA, Yeom HW., Safety and quality evaluation of a yogurt-based drink processed by a pilot plant pef system, *J. Food Process Eng.*, 27 (3), 197–212, 2004.
 18. Agregán R, Munekata PES, Putnik P, Pateiro M, Bursac Kovačević D, Zavadlav S et al., The Use of Novel Technologies in Egg Processing, *Food Rev. Int.*, 00 (00), 1–21, 2021.
 19. Moens LG, Van Wambeke J, De Laet E, Van Ceunbroeck JC, Goos P, Van Loey AM et al., Effect of postharvest storage on potato (*Solanum tuberosum* L.) texture after pulsed electric field and thermal treatments, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 74 (2021), 1–13, 2021.
 20. Keith WD, Harris LJ, Hudson L, Griffiths MW., Pulsed electric fields as a processing alternative for microbial reduction in spice, *Food Res. Int.*, 30 (3–4), 185–191, 1997.
 21. Neumann E, Rosenheck K., Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes, *J. Membr. Biol.*, 10 (1), 279–290, 1972.
 22. Zimmermann U, Pilwat G, Riemann F., Dielectric breakdown of cell membranes, *Biophys. J.*, 14 (11), 881–899, 1974.
 23. Riemann F, Zimmermann U, Pilwat G., Release and uptake of haemoglobin and ions in red blood cells induced by dielectric breakdown, *BBA - Biomembr.*, 394 (3), 449–462, 1975.
 24. Griese T, Kakorin S, Neumann E., Conductometric and electrooptic relaxation spectrometry of lipid vesicle electroporation at high fields, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 4 (7), 1217–1227, 2002.
 25. Kang DK, Nakamitsu S, Hosseini SHR, Iwasaki S, Kono S, Tominaga N et al., Effects of nanosecond pulsed electric field on the embryonic development of medaka fish egg (*Oryzias latipes*), *International Conference on Pulsed Power*, 1099–1103, 2009.
 26. Neumann E, Gerisch G, Opatz K., Cell Fusion Induced by High Electric Impulses Applied to *Dictyostelium*, *Naturwissenschaften*, 67 (8), 414–415, 1980.
 27. Zimmermann U, Pilwat G, Beckers F, Riemann F., Effects of external electrical fields on cell membranes, *Bioelectrochemistry Bioenerg.*, 3 (1), 58–83, 1976.
 28. Zimmermann U, Vienken J, Pilwat G., Development of Drug Carrier Systems: Electrical Field Induced Effects in Cell Membranes, *Bioelectrochemistry Bioenerg.*, 7 (3), 553–574, 1980.
 29. Benz R, Beckers F, Zimmermann U., Reversible electrical breakdown of lipid bilayer membranes: A charge-pulse relaxation study, *J. Membr. Biol.*, 48 (2), 181–204, 1979.
 30. Yin S, Liu Z, Mashayekh AS, Guo D, Qian J, Wang Y et al., Ultrastructural Changes in Hepatocellular Carcinoma Cells Induced by Exponential Pulses of Nanosecond Duration Delivered Via a Transmission Line, *Bioelectrochemistry*, 135 (2020), 1–13, 2020.
 31. Schoenbach KH, Xiao S, Joshi RP, Camp JT, Heeren T, Kolb JF et al., The effect of intense subnanosecond electrical pulses on biological cells, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 36 (2), 414–422, 2008.
 32. Su C, Fang T, Fang H., Effects of Electrostatic Field on Osteoblast Cells for Bone Regeneration Applications, *Hindawi, BioMed Res. Int.*, Vol 2017, 1–10, 2017.
 33. Fidan M, Camsari C, Coban M, Cetinkaya A, Kilinc E., In vitro effects of direct and alternate electric fields on SAOS-2 cell line, *World Cancer Res. J.*, 6: e1287 1–5, 2019.
 34. Fisher PD, Brambila CJ, McCoy JR, Kioussis WB, Mendoza JM, Oh J et al., Adipose Tissue: A New Target For Electroporation-Enhanced DNA Vaccines, *Gene Ther.*, 24 (12), 757–767, 2017.
 35. Gupta B Sen, Masterson F, Magee TRA., Inactivation of *E. coli* K12 in apple juice by high voltage pulsed electric field, *Eur. Food Res. Technol.*, 217 (5), 434–437, 2003.
 36. Martin O, Qin BL, Chang FJ, Barbosa-Canovas G V., Swanson BG., Inactivation of *Escherichia coli* in skim milk by high intensity pulsed electric fields, *J. Food Process Eng.*, 20 (4), 317–336, 1997.
 37. Min S, Jin ZT, Zhang QH., Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (11), 3338–3344, 2003.
 38. Zhang Q, Barbosa-Cánovas G, Swanson BG., Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization, *J. Food Eng.*, 25 (2), 261–281, 1995.
 39. Bellebna Y, Bermmaki H, Semmak A, Chaker R A, Tilmatine A., Study and analysis of new pulsed electric field treatment chamber configurations for food extraction, *Turkish J. Electr. Eng. Comput. Sci.*, 25 4149–4159, 2017.
 40. Fang HW, Sung YT, Su CY, Chen CC., Electrostatic field may regulate proliferation and immune responses of macrophages induced by polyethylene wear particles, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 77 (1), 21–29, 2017.
 41. Obarski GE, Beckel CL., High-intensity electrostatic-field exposure system for cultured biological cells, *Bioelectromagnetics*, 13 (2), 79–89, 1992.
 42. Okumura T, Yaegashi T, Yamada K, Ito T, Takahashi K, Aisawa S et al., Long period preservation of marine products using electrostatic field, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 55 (07LG07), 1–5, 2016.
 43. Michalczuk U, Przekop R, Moskal A., The effect of selected nanoparticles on rheological properties of human blood, *Bull. Polish Acad. Sci. Tech. Sci.*, 70 (1), 1–7, 2022.
 44. Cerna CZ, Elam DP, Echchgadda I, Sloan MA, Wilmsink GJ., State-of-the-art exposure chamber for highly controlled and reproducible THz biological effects studies, *Optical Interactions with Tissue and Cells XXV; and Terahertz for Biomedical Applications*, 89411H, 2014.
 45. Janositz A, Noack AK, Knorr D., Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices, *LWT - Food Sci. Technol.*, 44 (9), 1939–1945, 2011.

46. Fidan M., Harmoniklerden Kaynaklanan Gerilim Bozulmalarının Elektriksel Kısmi Boşalmalar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 98–102, 2011.
47. Sun W, Li L, Stefanescu EA, Kessler MR, Bowler N., Dynamics of poly(methyl methacrylate)-montmorillonite nanocomposites: A dielectric study, *J. Non. Cryst. Solids*, 410 (2015), 43–50, 2015.
48. Farah RI., Effect of simulated pulpal blood flow rate on the rise in pulp chamber temperature during direct fabrication of exothermic provisional restorations, *Int. Endod. J.*, 50 (11), 1097–1103, 2017.
49. Barrett RJ, Sandquist L, Richards BF, Soo TM., Antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate as an anterior biomechanical device for the treatment of cervical discitis and vertebral osteomyelitis: Technical report of two cases, *Turk. Neurosurg.*, 24 (4), 613–617, 2014.
50. Chaney A, Sundararajan R., Simple MOSFET-Based High-Voltage Nanosecond Pulse Circuit, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 32 (5), 1919–1924, 2004.
51. Sundararajan R, Shao J, Soundarajan E, Gonzales J, Chaney A., Performance of Solid-State High-Voltage Pulsers for Biological Applications—A Preliminary Study, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 32 (5), 2017–2025, 2004.
52. Kuffel E, Zaengl WS, Kuffel E., *High Voltage Engineering: Fundamentals*, 2, Madras, India, Butterworth-Heinemann, 2000.
53. Alisoy GT, Alisoy HZ., A boundary-value problem for dielectric spherical void in a homogeneous insulator by considering surface conductivity, *J. Electrostat.*, 65 (10–11), 639–645, 2007.
54. Yıldız BM, Kalenderli Ö, Altay Ö., Multi-Physical analysis of the effect of cable layout, distance between cables and ambient temperature on cable current carrying capacity in air vehicle wiring with finite element method, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 38 (4), 2147–2154, 2023.
55. Yıldız H, Durak B, Uzal E., Analytical solution of multi-winding coil problem in magnetic core in spherical coordinates and comparison with FEA results, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 39 (1), 65–75, 2024.
56. Dalvi-Isfahan M, Hamdami N, Le-Bail A., Effect of freezing under electrostatic field on selected properties of an agar gel, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 42 (March), 151–156, 2017.
57. Kakorin S, Redeker E, Neumann E., Electroporative deformation of salt filled lipid vesicles, *Eur. Biophys. J.*, 27 (1), 43–53, 1998.
58. Mousakhani-Ganjeh A, Hamdami N, Soltanizadeh N., Thawing of frozen tuna fish (*Thunnus albacares*) using still air method combined with a high voltage electrostatic field, *J. Food Eng.*, 169 149–154, 2016.
59. Kinoshita K, Tsong TY., Hemolysis of human erythrocytes by transient electric field., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 74 (5), 1923–1927, 1977.
60. Kinoshita K, Tsong TY., Voltage-induced conductance in human erythrocyte membranes, *BBA - Biomembr.*, 554 (2), 479–497, 1979.
61. Heermeier K, Spanner M, Träger J, Gradinger R, Strauss PG, Kraus W et al., Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Field (EMF) on Collagen Type I mRNA Expression and Extracellular Matrix Synthesis of Human Osteoblastic Cells, *Bioelectromagnetics*, 19 (4), 222–231, 1998.

