

### Заключение

Проведение экспертизы относительно работ по развитию новых технологий керамики  
14KP0055

Номер сообщения D140129-E

**ХУДЕНКО Наталии Юрьевны**

Заказчик

ООО НУГА ЛАБ  
Профессор доктор Шрайбер  
ул. Мария Райхе 1  
01109 Дрезден

Подрядчик

Ваш индекс: Заказ от 15.05.2014  
Институт Фраухофер по технологиям и системам  
керамики  
Отдел института по диагностике материалов  
керамических технологий и отдел института систем  
диагностики материалов IKTS-MD  
(в прошлом IZFP-D)  
вул. Мария-Райхе 2  
01109 Дрезден  
Телефон: +49 351 88815-501 Факс: – 509  
Наш номер проекта: 11556

Редактор

Доктор Йорг Опиц  
Телефон: +49 351 88815-600 Факс: 88815 – 509  
[joerg.opitz@ikts-md.fraunhofer.de](mailto:joerg.opitz@ikts-md.fraunhofer.de)

Конфиденциальность

конфиденциально



**Заключение**

**14КР0055**

**Номер сообщения: D140129-E**

Автор сообщения - Сильвана Диец	Отдел – Диагностики	Подпись
Содержание - Доктор естественных наук Йорг Опиц	Дата – 03.06.2014	Подпись
Распределение – Доктор технических наук Кристиан Вундерлих	Дата – 03.06.2014	Подпись
Ключевые слова (максимально 8)		
Количество страниц - 15		Количество приложений

**Резюме:**

Для развития новой технологии керамики для изготовления наноалмазов турманиевой керамики (ND-T), в частности, для обнаружения био-лечебного эффекта нового NDT- керамики были проведены исследования анализ спекл-контраст, для изображений темных полей относительно разделения эритроцитов и измерений pH на IKTS-MD, а также в институте Фраунхофер было проведено FEP Zeli Тесты на NDT-K.

К уже произошедшим исследованиям была выполнена английская экспертиза, которая обобщает и оценивает прежние результаты.

**Примечание:**

Распространение и размножение этой документации, распространение и размножение этих документов, использование и передача его содержания - даже частично - не допускается без письменного разрешения. Нарушение обязует выплату компенсации. Все права защищены, особенно в случае выдачи патента или регистрации.

**1 Введение**



Данная экспертная оценка обобщает и оценивает результаты характеристики и сравнения недавно разработанного наноалмазного турмания компании NUGA LAB GmbH. Компания NUGA LAB GmbH в основном заинтересована в применении наноалмазного турмания в биомедицинских целях.

Этот документ подытоживает подверженность клеток культуры воздействию инфракрасного излучения, тепла, а также характеристики теплопроводности, описание микроструктуры, анализ механических свойств, спекл-контраст и исследование микроскопии в темном поле применительно к новому материалу.

Сравнение результатов турманиевой керамики и нового наноалмазного турмания демонстрируют в некоторых аспектах четкое различие между этими двумя материалами. Различия и возможное преимущество оценивались для всех исследований.



## 2 Клеточная экспертиза

### 2.1 Влияние турмания (Т) и наноалмазного турмания (НАТ) на метаболическую активность поврежденных моноцитов в различных температурных условиях

#### 2.1.1 Назначение

Целью исследования было выявить влияние ИК-излучения Т и НАТ на биологическую активность клеток. Испытания проводились на отобранной клеточной линии человеческих моноцитов.

#### 2.1.2 Метод

Эксперименты проводились в компании Фраунгофера FER в Дрездене. Процедура проиллюстрирована на рис. 1 (а). Культивированная клетка была повреждена циклогексимидом (0.5 рМ) с целью провокации возникновения апоптоза.

Опытные группы - Т, НАТ и контрольная, клетки косвенно контактировали с Т НАТ (количество тестов  $n > 3$ ). Температура применения составляла 37 ° С и 67 ° С (3 дня, 3x20 мин с интервалом 1,5 часа).

После лечения метаболическая активность моноцитов была проверена при помощи резуриновой пробы.

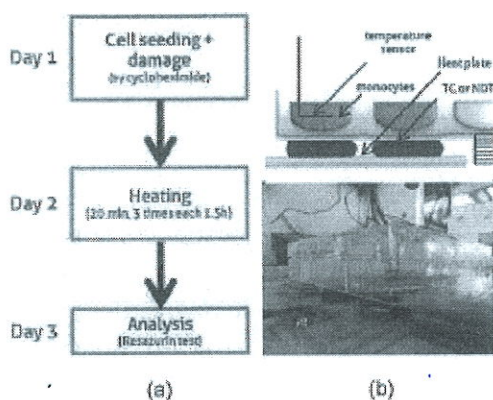


Figure. 1 (a) Test procedure, (b) test setting

Day 1	День 1
Day 2	День 2
Day 3	День 3
Cell seeding+ damage (by cycloheximide)	Повреждения клеток посева (циклогексимидом)
Heating (20 min, 3 times each 1,5 h)	Подогревание (20 мин, 3 раза по 1,5 ч)
Analysis (Reazurin test)	Анализ (резуриновая проба)
Temperature sensor	Датчик температуры
Monocytes	Моноциты
Heatplate	Нагревающая пластина
TC or NDT	Т (турманий) или НАТ (наноалмазный турманий)



Рисунок 1 (а) Процедура тестирования, (б) настройки тестирования

### 2.1.3 Результат

После косвенного контакта с Т и НАТ при 37 и 67 ° С, не произошло травмирования моноцитов, вызванных применением. В обоих случаях метаболическая активность предварительно поврежденных моноцитов, тем не менее, слегка увеличилась из-за применения Т и НАТ - см. рис. 2 (а).

При температуре нагрева 37 ° С лечение с применением НАТ стимулирует метаболическую активность предварительно поврежденных моноцитов намного больше по сравнению с контрольной группой и применением Т (рис. 2 (б)).

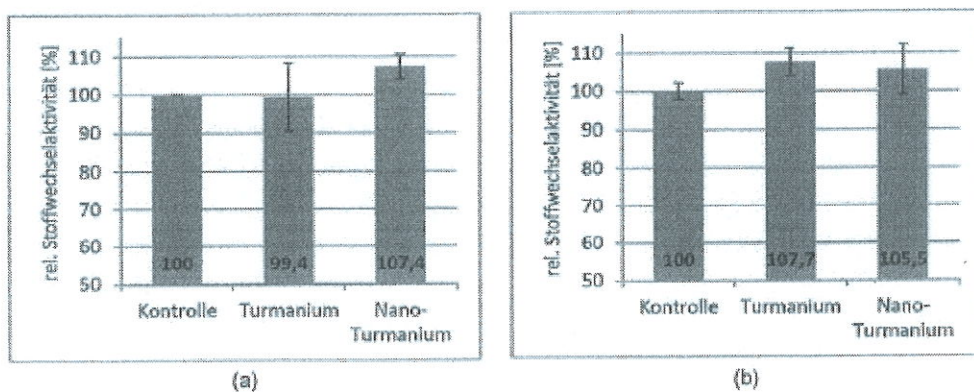


Рисунок 2: Метаболическая активность поврежденных моноцитов при непрямом контакте с Т и НАТ в сравнении с контрольной группой; (а) 37 ° С, (б) 67 ° С

(Подпись)

Доктор Йорг Опиц

Директор подразделения

Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



## 2.2 Воздействие турмания (Т) и наноалмазного турмания (НАТ) на метаболическую активность фибробластов и моноцитов человека

### 2.2.1 Цель

Цель состояла в том, чтобы исследовать влияние Т и НАТ (0,05% и 0,1%) на метаболическую активность моноцитов и фибробластов.

### 2.2.2 Метод

Эксперименты проводились в компании Фраунгофера FEP в Дрездене. Процедура проиллюстрирована на рис. 1 (а). Человеческие моноциты и фибробласты контактировали с Т и НАТ с различным содержанием наноалмазов.

После лечения метаболическая активность моноцитов была проверена при помощи резуриновой пробы.

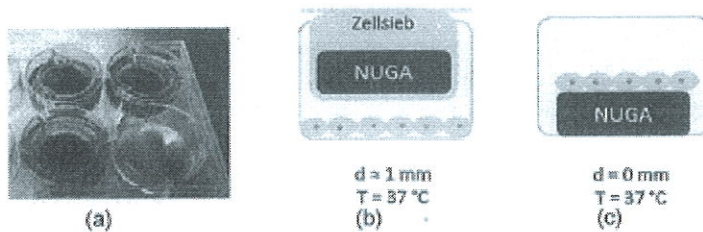


Рисунок. 1 Условия исследований для Т и НАТ при контакте с клетками: а) прямой контакт, (б) камень в клеточном пигменте. В обоих случаях время инкубации составляет 48 ч, для поврежденных клеток - только 24 ч, (в) непосредственное склеивание клеток в шестиугольники.

### 2.2.3 Результат

Прямой контакт Т и НАТ с неповрежденными клетками (см. рис 1 (а)) не оказывает существенного влияния на метаболическую активность. Стимулирование и помехи сбалансированы.

Моноциты, отделенные камнями НАТ, имеют повышенную метаболическую активность по сравнению с вариантом, когда наноалмазы не применялись - см. рис. 2.

Склеенные фибробласты демонстрируют значительное увеличение клеточной метаболической активности в ходе применения НАТ с 0,1% наноалмазов, в то время как различия между НАТ 0,05% и Т не обнаружено.

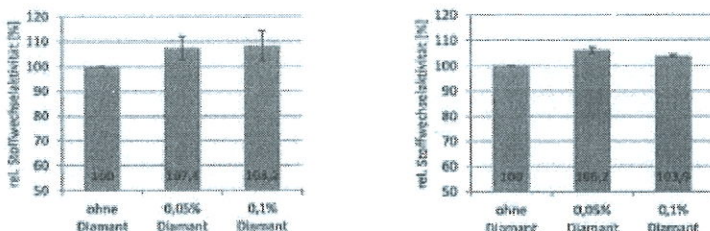


Рисунок. 2 Метаболическая активность моноцитов (а), не поврежденных клеток и (б) поврежденных клеток после применения Т, 0,05% НАТ и 0,1% НАТ. Рис. 1 (б).

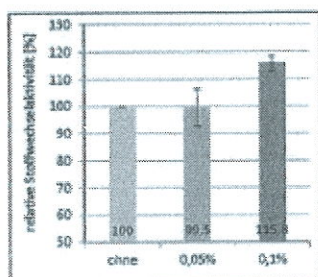


Рисунок. 3: Метаболическая активность фибробластов для Т и НАТ, 0.05% и НАТ 0.1% см рис. 1 (с).

(Подпись)

Доктор Йорг Опиц

Директор подразделения

Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



### 3 Экспертиза анализа материалов

#### 3.1 Инфракрасная излучательная способность турмания (Т), наноалмазного турмания (НАТ) и нефрита

##### 3.1.1 Цель

Целью исследования было сравнение инфракрасного излучения между Т, НАТ с 0,1% наноалмазов и нефритом при разной температуре нагрева.

##### 3.1.2 Метод

ИК-излучение измерялось институтом Фраунгофера IWS в Дрездене с помощью НПВО-спектрометра Co. Bruker Optics. Образцы были зафиксированы на медной нагревательной пластине и помещены в оптическое окно спектрометра. Для разных температур нагрева, которые были стабилизированы при помощи термостата, зависимость длины волны ИК-эмиссии была установлена в диапазоне  $\lambda = 2,5 - 20$  мкм.

##### 3.1.3 Результат

Главный результат исследования заключается в том, что хорошо подготовленные образцы НАК имеют коэффициент излучения примерно на 10% выше, чем стандартные образцы Т. Между пропитанными и порошковыми образцами НАТ различие не обнаружено, если производство было выполнено в соответствии с оптимизированной технологией.

Отличный результат был получен для яшмы, которая имеет более низкую скорость ИК-излучения для почти всей измеряемой длины волны.

Указанные результаты получены при всех исследованных температурах 25, 37, 45, 60 и 85 °С, однако, наиболее выраженный эффект наблюдался при температуре 60 °С - см. рис. 1.

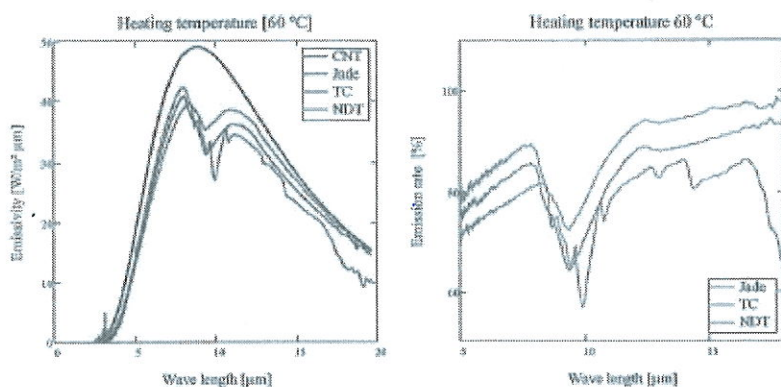


Рисунок 1 (а) Инфракрасное излучение для трех материалов.

Heating temperature	Температура нагрева
Wave length	Длина волны
Emissivity (W/m <sup>2</sup> μm)	Коэффициент излучения (Вт/м <sup>2</sup> мкм)
Emission rate (%)	Уровень излучения (%)

(Подпись)

Доктор Йорг Опиц

Директор подразделения

Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



### 3.2 Тепловые характеристики роликов, изготовленных из турмания (Т), наноалмазного турмания и нефрита

#### 3.2.1 Цель

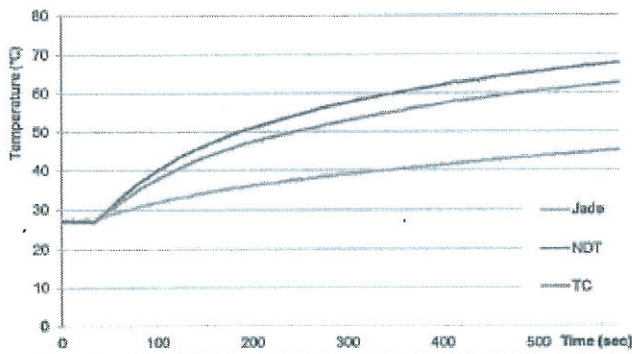
Целью исследования было изучение тепловых характеристик роликов, изготовленных из НАТ с 0,1% наноалмазов, сравнение их с роликами, изготовленными из Т и нефрита, а также оценка сокращения потребления энергии в ходе их применения в массажных кроватях.

#### 3.2.2 Метод

Образцы роликов из Т были подготовлены стандартным производственным способом NUGA, а ролик из НАТ - в соответствии с новой разработанной технологией компании Fraunhofer IKTS. Ролик из яшмы был предоставлен NUGA Medical, Корея. Все образцы были адаптированы к комнатной температуре. После этого температура поверхности всех образцов измерялась одновременно в течение 10 мин с помощью ИК-камеры (Infratec, Германия). Через 30 сек после начала эксперимента образцы прогрелись до середины измерения до конца измерения. Источником тепла были галогенные лампы (12 вольт, 10 Ватт, BA15S), каждая лампа была расположена внутри ролика, посередине.

#### 3.2.3 Результат

Кривая нагрева НАТ существенно превышает кривые Т и нефрита - см. рис. 2. Наблюдаемая реакция оказывает положительное влияние на потребление энергии. Как видно в табл.1, относительная экономия времени нагрева оценивалась на основе данных рис. 2. Более короткий период нагрева для получения рабочей температуры повышает удобство ежедневного применения роликов в массажной кровати.



Temperature	Температура
Time	Время
Jade	нефрит



Рисунок 2: Кривая нагрева для трех образцов роликов, изготовленных из Т, НАТ и нефрита

T [°C]	$(t_{\text{НАТ}} - t_{\text{Т}}) / t_{\text{НАТ}} [\%]$	$(t_{\text{НАТ}} - t_{\text{неф}}) / t_{\text{НАТ}} [\%]$	$(t_{\text{Т}} - t_{\text{неф}}) / t_{\text{Т}} [\%]$
40	19	237	192
45	24	320	240
50	30	-	-
60	36	-	-

Таблица 1: Экономия по времени нагрева для НАТ в сравнении с Т и яшмой

(Подпись)  
Доктор Йорг Опиц  
Директор подразделения  
Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



### 3.3 Коэффициент температуропроводности (CTD) турмания (Т) и наноалмазного турмания (НАТ)

#### 3.3.1 Цель

Целью исследования было сравнение температуропроводности турмания и с наноалмазного турмания с 0,1% наноалмазов, используя различные методы анализа.

#### 3.3.2 Метод

Анализ температуропроводности был осуществлен с применением двух различных методов: **Проверенный стандартный метод:** Компания Fraunhofer IKTS использовали устройство Nano Flash FA 447 для этой цели, в котором короткая вспышка высокой мощности нагревала нижнюю сторону образца, а инфракрасный детектор определял временную зависимость от температуры на противоположной верхней стороне. По помощью сложных модельных функций температуропроводность определяли с помощью процедуры подгонки.

**Упрощенный тест:** Для ускоренной проверки тепловых особенностей подготовленные образцы Т и НАТ подогревались нагревательной плитой с постоянным потоком тепла. Температуру измеряли на поверхности образца на противоположной стороне. Поскольку образцы имеют разную толщину, их нагревательные характеристики трудно сравнивать. Поэтому для анализа данных использовалась простая модель. Пренебрегая пограничными эффектами и принимая во внимание только кратковременную реакцию, можно проанализировать данные на основе одномерного уравнения для диффузии тепла:

$$T(z, t, E, a) = \int_0^t \frac{E}{\sqrt{4a \cdot (t - \tau)}} \cdot \exp\left[-\frac{z^2}{4a \cdot (t - \tau)}\right] d\tau$$

#### 3.3.3 Результат

Оба метода анализа показали аналогичные результаты - см. табл. 1 В соответствии с этим можно сделать вывод, что значение температуропроводности для НАТ на 10-20% выше, чем для Т.

Образец	Диаметр [мм]	Высота [мм]	Температуропроводность [мм <sup>2</sup> /с] IKTS	Температуропроводность [мм <sup>2</sup> /с] Nuga Lab
TC	22.3	6.646	1.054	0.606
NDT	22.08	6.983	1.137	0.864

Таблица 1: Результаты анализа температуропроводности IKTS и упрощенного анализа на NUGA LAB

(Подпись)

Доктор Йорг Опиц

Директор подразделения

Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения

### 3.4 Микроструктура и структурные компоненты турмания (Т) и наноалмазного турмания (НАТ)

#### 3.4.1 Цель

Целью исследования было изучение микроструктуры и содержания фаз для Т и НАТ с 0,1% наноалмазов.

#### 3.4.2 Метод

Институт Fraunhofer Institute IKTS использует стандартную процедуру световой микроскопии (СМ) для определения микроструктуры, особенно касательно содержания пор. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), включая элементарный энергодисперсионный анализ, а также метод рентгеновской дифрактометрии (МРД), применялись для изучения содержания фазы спеченной керамики.

#### 3.4.3 Результат

СМ и СЭМ показали, что микроструктура Т и НАТ схожа, оба материала имеют практически одинаковое количество пор.

МРД свидетельствует о том, что содержание фазы также почти одинаковое; однако несколько проявлений при МРД изменились или даже исчезли.

Из-за изменения атмосферы спекания – Т в окислительном воздухе и НАТ при снижении  $N_2/H_2$  - элементарный энергодисперсионный анализ выявил некоторые различия. Самый интересный из них - существование атомов Fe в матрице НАТ.

Обнаруженные структурные изменения в НАТ могут быть причиной изменения его физических свойств.

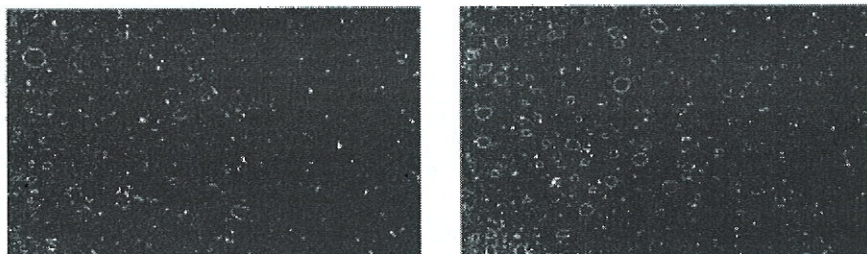
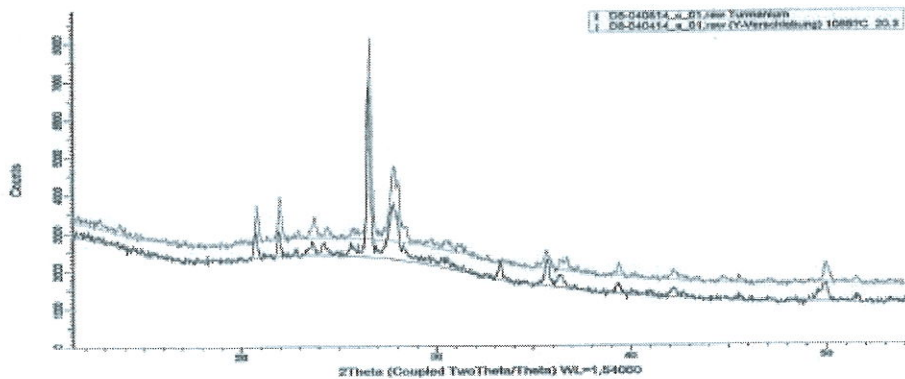


Рисунок 1. Микрофотографии (а) Т, (б) НАТ с 0,1%





наноалмазов.

Рисунок 2 Сравнение дифрактограмм Т (черная) и НАТ (0,1%, красная)

(Подпись)  
Доктор Йорг Опиц  
Директор подразделения  
Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



## 5 Механические свойства турмания (Т), наноалмазного турмания (НАТ)

### 3.5.1 Цель

Целью исследования было сравнение твердости и вязкости разрушения для Т и НАТ с 0,1% наноалмазов.

### 3.5.2 Метод

Институт Fraunhofer Institute IKTS использовал стандартный измеритель твердости Vickers для определения твердости по Виккерсу HV1. Вязкость разрушения определялась indentацией при помощи метода IF.

### 3.5.3 Результат

Макроскопические механические свойства твердости и вязкости разрушения абсолютно идентичны для Т и НАТ.

Материал	Плотность [г/см <sup>3</sup> ]	Твердость HV1 [ГПа]	Вязкость разрушения [МПа м <sup>1/2</sup> ]
Т	2.39	5.7 ±0.2	1.2 ±0.1
НАТ	2.39	5.7 ±0.2	1.2 ±0.1

Таблица 1: Твердость и вязкость разрушения для Т и НАТ

(Подпись)

Доктор Йорг Опиц

Директор подразделения

Структурный и медицинский мониторинг здравоохранения



## 4 Проверка микроциркуляции

### 4.1 Стимуляция микроциркуляции крови с применением турмания и наноалмазного турмания

#### 4.1.1 Цель

Целью исследования было сравнение микроциркуляции крови при использовании нефрита, керамического турмалина и наноалмазного турмалина с 0,1% наноалмазов с помощью лазерного спекл-контраста и биологического спекл-анализа в качестве метода измерения кровотока.

#### 4.1.2 Метод

Все используемые образцы излучают инфракрасное излучение и могут стимулировать приток крови под воздействием тепла. Кроме того, Т и НАТ испускают ионизирующее излучение, ответственное за отрицательные ионы в их окружении и взаимодействующее с кровью. Учитывая это, вязкость крови может быть снижена, может также наблюдаться деагломерация эритроцитов. Следовательно, активация микроциркуляции крови не предвидится.

Гранулы кожи человека под воздействием лазера способны выявлять разницу в силе микроциркуляции. Лазерный диод мощностью 650 нм использовался для испытаний. Динамика гранул была зафиксирована в видеопоследовательности (200 изображений с 24 кадрами в секунду, со временем экспозиции 1/60). Два проанализированных параметра: контрастность гранул ( $C$ ) =  $RMS/\Phi$  ( $RMS$  - среднееквадратичное значение,  $\langle I \rangle$  - средняя интенсивность гранул). Контраст тем меньше, чем быстрее течет кровь, то есть микроциркуляцию крови  $MC \sim 1/C$ . Пример - см. рис. 1. Измерения проводились в закрытом окне, чтобы избежать неконтролируемого влияния окружающей среды.

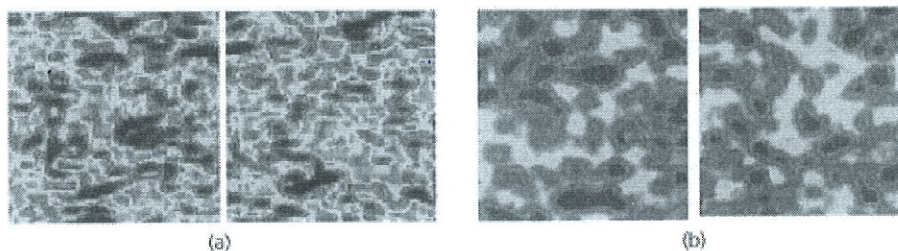


Рисунок. 1 Псевдоцветные изображения измерения микроциркуляции: (а)  $MC \sim 1/C$  и (б)  $MC \sim$  Биоактивность. Снимки сделаны недалеко от запястья левой руки, перед (слева) и примерно через 7 мин после применения браслета НАТ (справа). Чем больше красного/желтого цвета - тем интенсивнее микроциркуляция.

#### 4.1.3 Результат

Т и НАТ стимулировали значительное повышение микроциркуляции крови уже вскоре после вмешательства – через 5-10 мин, - см. рис 1 и 2.

