

Kryogene Probenvorbereitung von Lebensmitteln leicht gemacht

Auswahl der geeigneten Labormühle und des Zubehörs für Mahlprozesse mit Trockeneis oder Flüssigstickstoff

Bevor eine zuverlässige und genaue chemische oder physikalische Analyse an einer Feststoffprobe durchgeführt werden kann, muss diese im Rahmen der Probenvorbereitung hinreichend zerkleinert und homogenisiert werden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Einzelprobe repräsentativ für das Ausgangsmaterial ist, und die Probenvorbereitung reproduzierbar abläuft. Nur so können aussagekräftige Analyseergebnisse garantiert werden. Die meisten Probenmaterialien lassen sich durch die Wahl des geeigneten Zerkleinerungsgerätes und des darin wirkenden Beanspruchungsmechanismus (Prall, Druck, Reibung, Scherung, Schneiden) problemlos bei Raumtemperatur auf die benötigte Analysenfeinheit zerkleinern.

Allerdings gibt es Grenzen für eine Vermahlung bei Raumtemperatur, z. B. wenn schon eine geringe Erwärmung der Probe ein Problem darstellt, oder das Material so elastisch ist, dass es mit den genannten Zerkleinerungsprinzipien lediglich verformt wird. Eine ideale Lösung für die Zerkleinerung solcher Proben bietet die sogenannte Kryogen- bzw. Kaltvermahlung. Dabei kommen **Mahlhilfsmittel wie Flüssigstickstoff (-196°C) oder Trockeneis (-78°C)** zum Einsatz, die das Probenmaterial durch Kühlung verspröden und dadurch das Bruchverhalten verbessern. Außerdem bleiben leicht flüchtige Bestandteile durch die Kühlung besser in der Probe erhalten. Im Folgenden wird erläutert, für welche Proben eine Kryogenvermahlung sinnvoll ist, welche Mühlen geeignet sind, und welche Aspekte beachtet werden müssen.

Für welche Materialien ist eine Kryogenvermahlung sinnvoll?

Zähe und klebrige Proben

Manche Proben lassen sich aufgrund ihrer Klebrigkeit, Zähigkeit oder Elastizität nur schwer pulverisieren. Käse z. B. kann zwar in einer Messermühle zerkleinert werden, allerdings liegt die Endfeinheit dann immer noch bei 1 - 2 mm großen

Partikeln, was für die Analytik nicht ausreichend ist. Süßigkeiten hingegen bestehen häufig aus unterschiedlichen Komponenten wie z. B. elastischer Schaumzucker mit klebriger, flüssiger Füllung. Solche Proben neigen dazu, bei der Vermahlung ohne Versprödung die Mühle zu verkleben. Unter kryogenen Bedingungen jedoch werden die Brucheigenschaften von Käse oder Süßigkeiten soweit verbessert, dass sich diese Proben erfolgreich pulverisieren lassen.

Proben mit leicht flüchtigen Bestandteilen

Manche Lebensmittelproben enthalten flüchtige Bestandteile, die durch Wärme, welche im Mahlprozess entstehen kann, ausgetrieben werden können. Die Verflüchtigung wird natürlich mit zunehmender Oberfläche während der Probenzerkleinerung begünstigt. Solche flüchtigen Bestandteile können Alkohole in Pralinen oder Rückstände wie Weichmacher aus Plastikverpackungen sein, die dann beispielsweise in die fettige Wurst immigrieren. Dort akkumulieren diese Stoffe, bei Verzehr akkumulieren sie dann im Körper und können dort z.B. schädigend wirken. Um das Ausdünsten dieser flüchtigen Bestandteile vor einer entsprechenden Analyse zu vermindern oder ganz zu unterbinden, ist eine Vermahlung unter kryogenen Bedingungen sinnvoll.

Temperaturempfindliche Proben

Andere Lebensmittelproben sind temperaturempfindlich, da Inhaltsstoffe schon bei geringer Erwärmung denaturieren können (Vitamine, Proteine). Auch hier, z.B. in Milchprodukten oder Früchten kann eine Kaltvermahlung mit flüssigen Stickstoff oder Trockeneisschnee hilfreich sein.

Geeignete Labormühlen für die Kryogenvermahlung

Bei der Auswahl einer geeigneten Labormühle für die Kryogenvermahlung müssen einige Aspekte beachtet werden. Zum einen ist die **Menge der Probe** ausschlaggebend für die Wahl der Mühle, aber auch die **Aufgabekorngröße** und **gewünschte Endfeinheit** spielen eine wichtige Rolle. Die **Schwingmühlen** MM 400 und CryoMill sind für die Vermahlung kleiner Probenmengen geeignet. In diesen Mühlen werden selbst bei anspruchsvollen Proben häufig **höhere Endfeinheiten** als z. B. in Rotormühlen erreicht, da die Probe längere Zeit im geschlossenen Mahlbecher verbleibt als im offenen Mahlraum der Rotormühlen. Die Probe wird dabei während der gesamten Mahldauer kontinuierlich gekühlt, in der CryoMill sogar mit Temperaturkonstanz

bei -196 °C.

Rotormühlen, Messermühlen oder **Schneidmühlen** können wesentlich **größere Probenmengen bzw. Aufgabekorngrößen** vermahlen als Schwingmühlen. Die Messermühle GRINDOMIX GM 300 eignet sich sehr gut für die Kryogenvermahlung von Lebensmitteln, wobei die Versprödung ausschließlich mit Trockeneisschnee erfolgen sollte, da die Mühle nicht für Temperaturen bis -196°C geeignet ist. **Bei Rotormühlen oder Schneidmühlen hingegen hat der Anwender die Wahl zwischen einer Versprödung mit Trockeneisschnee oder flüssigem Stickstoff.** Eine Versprödung mit Trockeneisschnee bietet den Vorteil, dass dieser nicht so schnell verdampft wie flüssiger Stickstoff und zusammen mit der Probe vermahlen werden kann, was zu einem verlängerten Kühleffekt führt. Dies ist gerade für Materialien mit geringer Wärmekapazität von Vorteil, welche die kühle Temperatur schlecht halten können (z. B. faserige Lebensmittel oder Schokostreusel). Bei Proben, die bei Erwärmung den Mahlraum, bzw. das Bodensieb verkleben würden (Kartoffeln mit hohem Wasseranteil) ist eine leichte Erwärmung während der Vermahlung ebenfalls unerwünscht, weshalb hier mit Trockeneisschnee gearbeitet werden sollte. Außerdem ist die Probenaufgabe mit Trockeneisschnee in der Regel einfacher, da die Probe nicht aus einem Bad mit flüssigem Stickstoff geholt werden muss, was vor allem bei sehr feinen Ausgangspartikeln <1 mm vorteilhaft ist. Die Handhabung von Trockeneisschnee ist gegenüber flüssigem Stickstoff sicherer, da z. B. geringere Erstickungsgefahr besteht. Zudem wird das Proben-Trockeneis-Gemisch als Ganzes vermahlen, wodurch ein Spritzen wie bei der Verwendung von flüssigem Stickstoff vermieden wird. Unabhängig davon sollten immer die einschlägigen Sicherheitsvorkehrungen bei Umgang mit tiefkalten Hilfsmitteln beachtet werden. Im Folgenden werden die wichtigsten Mühlen vorgestellt, die für Kryogenvermahlungen in Frage kommen.

Schwingmühle MM 400 und CryoMill

Für die **Homogenisierung kleinerer Probenmengen** sind die Schwingmühlen MM 400 und CryoMill bestens geeignet, wobei die maximale Aufgabekorngröße bei 8 mm liegt. Diese Mühlen verfügen über eine bzw. zwei Mahlstationen, die mit fest verschlossenen Mahlbechern bestückt werden, die mit Probe und Mahlkugeln befüllt sind. Erst dann findet die Versprödung der Probe mit Flüssigstickstoff statt.

In der **MM 400** kann dies **in Mahlbechern aus Stahl oder Teflon bzw. in Einmalgefäßen** von 1,5, 2 oder 5 ml Größe erfolgen. Es ist unbedingt darauf zu achten, dass kein flüssiger Stickstoff in den Mahlbechern eingeschlossen wird, da dieser bei der Erwärmung während des Mahlvorganges durch Übergang in die Gasphase zu einem stark erhöhten Innendruck führen würde. Mit einer Tiegelzange wird der verschlossene Mahlbecher für ca. 2 – 3 Minuten in den mit Flüssigstickstoff gefüllten Isolierbehälter gelegt und danach mit der Tiegelzange entnommen und sicher in die MM 400 eingespannt. Bedingt durch den hohen Energieeintrag und die daraus resultierende Reibungswärme sollte die Mahldauer 3 min nicht überschreiten, um eine signifikante Erwärmung der Probe oder eine Veränderung der Brucheigenschaften zu vermeiden. Bei längeren Mahldauern ist eine Zwischenkühlung des geschlossenen Bechers ratsam.

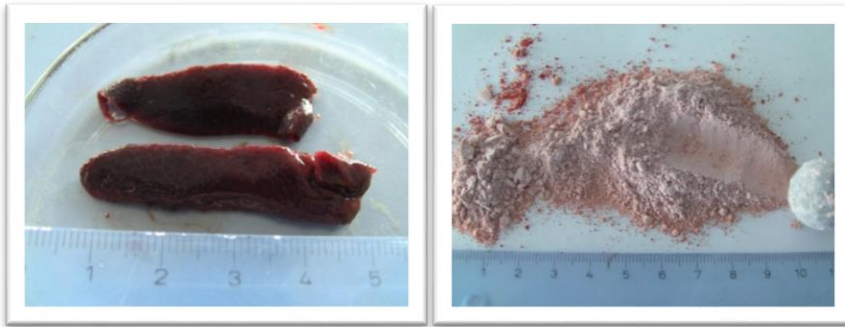
Im Gegensatz zur MM 400 bietet die **CryoMill** den Vorteil einer **kontinuierlichen Spülung der Mahlbecherhalterung mit Flüssigstickstoff**, wodurch Mahlbecher und Probe nach wenigen Minuten ebenfalls auf -196°C gekühlt sind. Somit ist eine **Temperaturkonstanz bei – 196 °C** auch bei längerer Vermahlung garantiert, eine Zwischenkühlung wie bei längeren



CryoMill

Kryogenvermahlungen in der MM 400 ist nicht erforderlich. Außerdem kommt der Anwender zu keinem Zeitpunkt mit flüssigem Stickstoff in Kontakt, was den Betrieb der CryoMill **besonders sicher** macht. Die automatische Vorkühlfunktion der Mühle garantiert, dass die Vermahlung erst bei Erreichen der Temperaturkonstanz bei – 196 °C startet. Für die schwermetallfreie Probenaufbereitung steht für die CryoMill ein Mahlbecher aus Zirkonoxid zur Verfügung.

Mühle	Probe	Zubehör	Aufgabemenge	Mahldauer	Geschwindigkeit	Endfeinheit
MM400	Gummi-bärchen	2 Mahlbecher rostfreier Stahl 50 ml, 2 Mahlkugeln 25 mm rostfreier Stahl, Kryokit, flüssiger Stickstoff	10 Stück	1 min	30 Hz	< 300 µm
MM400	Kaugummi	2 Mahlbecher rostfreier Stahl 50 ml, 2 Mahlkugeln 25 mm rostfreier Stahl, Kryokit, flüssiger Stickstoff	20 g	30 sek	30 Hz	< 500 µm
MM400	Schweine-leber	2 Mahlbecher rostfreier Stahl 35 ml, 2 Mahlkugeln 20 mm rostfreier Stahl, Kryokit, flüssiger Stickstoff	10 g	2 min	30 Hz	< 400 µm
CryoMill	Kirschen	1 Mahlbecher rostfreier Stahl 50 ml, 4 Mahlkugeln 15 mm rostfreier Stahl	2 g	10 sek	30 Hz	< 600 µm
CryoMill	Rinderhack	1 Mahlbecher rostfreier Stahl 50 ml, 1 Mahlkugeln 25 mm rostfreier Stahl	8 g	4 min	30 Hz	< 200 µm
CryoMill	Grüne Kaffee-bohnen	1 Mahlbecher rostfreier Stahl 50 ml, 1 Mahlkugeln 25 mm rostfreier Stahl	8,5 g	15 min	30 Hz	< 150 µm



Schweineleber vor und nach der kryogenen Zerkleinerung in der MM 400

Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200

Eine weitere Mühle, die sich hervorragend für die kryogene Feinzerkleinerung auch größerer Probenmengen eignet ist die Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200. Dazu wird die Probe direkt in einen Kühlbehälter mit LN₂ getaucht und anschließend langsam aber kontinuierlich, z. B. mit einem Stahlöffel, in den Trichter der ZM 200 aufgegeben und vermahlen. Bei stark fetthaltigen oder temperaturempfindlichen Proben führt eine Versprödung oftmals zu einem verbesserten Mahlprozess, da die Auswirkungen der entstehenden Reibungswärme durch die Kühlung vermindert werden.

Soll die Probe mit Trockeneisschnee versprödet werden, wird dieser im Volumenverhältnis 2:1 mit der Probe gemischt und komplett in der ZM 200 vermahlen. Da es sich bei Trockeneis um reines Kohlenstoffdioxid handelt, verdampft es nach und nach rückstandslos aus der Probe. Damit sowohl CO₂ als auch Reste von LN₂ während der Kryogenvermahlung in der ZM 200 abdampfen können, empfehlen wir die Verwendung einer Kassette in Kombination mit einem **Zyklon**.



ZM 200

Mühle	Probe	Zubehör	Aufgabemenge	Mahldauer	Geschwindigkeit	Endfeinheit
ZM200	Müslipellets	12 Zahnrotor, Ringsieb 0,5 mm, Zyklon, flüssiger Stickstoff	100 g	3 min	18.000 min ⁻¹	< 250 µm
ZM200	Algen-Nahrungsmittelergänzung	12 Zahnrotor, Ringsieb 0,12 mm, Zyklon, Trockeneisschnee	70 g	5 min	18.000 min ⁻¹	< 100 µm



Müslipellets vor und nach der kryogenen Zerkleinerung in der ZM 200

Schneidmühle SM 300

Die oben beschriebenen Aspekte zur Wahl des Mahlhilfsstoffes sind auch bei der Kryogenvermahlung in der Schneidmühle SM 300 zu beachten. Diese Mühle ist besonders für die **Zerkleinerung von zähen Materialien** wie Schokoladentafeln geeignet, akzeptiert aber größere Ausgangspartikel als die ZM 200. Da das Probenmaterial bei der Versprödung recht hart wird empfiehlt sich die Verwendung des 6-Scheiben-Rotors, welcher eher wie ein Schredder wirkt. Dieser ist auch für heterogene Proben wie z. B. ganze Forellen samt Gräten und Haut geeignet.



Mühle	Probe	Zubehör	Aufgabemenge	Mahldauer	Geschwindigkeit	Endfeinheit
SM300	Schokoladenblock	Parallelschnittrotor, Bodensieb 4 mm, flüssiger Stickstoff	500 g	1 min	700 min ⁻¹	< 4 mm
SM300	Ganze Forellen	6-Scheibenrotor, Bodensieb 20 mm, flüssiger Stickstoff	1 kg	1 min	700 min ⁻¹	< 20 mm
SM300	Süßkartoffeln	6-Scheibenrotor, Bodensieb 20 mm, Trockeneisschnee	20 kg	15 min	1500 min ⁻¹	< 20 mm



Forelle vor und nach der kryogenen Zerkleinerung in der SM 300

Messermühle GRINDOMIX GM 300

Klebrige und zähe Lebensmittel wie Rosinen, Fruchtgummi oder Marzipan lassen sich in der Messermühle GRINDOMIX GM 300 hervorragend homogenisieren. Selbst **Schokolade**, die bei Raumtemperatur lediglich zu einer Paste vermahlen werden kann, **lässt sich kryogen problemlos pulverisieren**. Dazu wird die Probe im Verhältnis 1:2 mit Trockeneisschnee vermischt; nach wenigen Minuten ist sie durchgekühlt und die Vermahlung in der GM 300 kann erfolgen. Der Trockeneisschnee kühlt die Probe auch während der Vermahlung. Für die Kryogenvermahlung in der GM 300 ist es wichtig, Zubehörmaterial ohne Kunststoffanteile einzusetzen, da diese sonst ebenfalls verspröden und beschädigt werden könnten. Für die GM 300 stehen ein **Mahlbehälter aus Stahl**, ein **Vollmetallmesser** sowie ein **Deckel zur Kryogenvermahlung** zur Verfügung. Letzterer weist ein Loch auf, damit gasförmiges CO₂ entweichen kann.



GM 300

Mühle	Probe	Zubehör	Aufgabemenge	Mahldauer	Geschwindigkeit	Endfeinheit
GM300	Fruchtgummi	Mahlbehälter Rostfreier Stahl, Ganzmetallmesser, deckle für Kryogenvermahlung, Trockeneisschnee	300 g	1 min	2000 min ⁻¹ revers und 4000 min ⁻¹ vorwärts	< 1 mm
GM300	Gefrorene Weintrauben	Mahlbehälter Rostfreier Stahl, Ganzmetallmesser, deckle für Kryogenvermahlung, Trockeneisschnee	250 g	30 sek	2000 min ⁻¹ revers und 4000 min ⁻¹ vorwärts	< 400 µm
GM300	Marzipan block	Mahlbehälter Rostfreier Stahl, Ganzmetallmesser, deckle für Kryogenvermahlung, Trockeneisschnee	300 g	40 sek	2000 min ⁻¹ revers und 4000 min ⁻¹ vorwärts	< 800 µm



Fruchtgummi vor und nach der Zerkleinerung mit Trockeneis in der GRINDOMIX GM 300

Übersicht RETSCH Mühlen für die Kryogenvermahlung				
Mühle	Aufgabekorngröße ^{1 2}	Max. Aufgabemenge ^{1 2}	Endfeinheit ^{1 2}	Bemerkung
CryoMill	< 8 mm	1 x 20 ml	50 µm	Kontinuierliche Vermahlung unter kryogenen Bedingungen Anwender kommt zu keinem Zeitpunkt in Kontakt mit LN2 Mahlbecher aus Zirkonoxid für kryogenes Vermahlen verfügbar
MM 400	< 8 mm	2 x 20 ml	100 µm	Probenmaterial wird vor der Vermahlung im fest verschlossenen Mahlbecher aus rostfreiem Stahl oder Teflon versprödet Zwischenkühlschritte sind eventuell nötig
ZM 200	< 10 mm	4000 ml	300 µm	Versprödung mit LN2 wird z. B. für Probenmaterialien mit Glasübergangstemperatur < -80°C angewendet Trockeneis ist bestens geeignet für Materialien, die eine geringe Wärmekapazität haben Trockeneis wird bei Proben mit Aufgabekorngröße < 1 mm bevorzugt verwendet Nur mit Verwendung des Zyklons
GM 300	< 40 mm	2000 ml	500 µm	Versprödung mit Trockeneis ist bestens geeignet für Materialien, die eine geringe Wärmekapazität haben Trockeneis kühlt die Probe während der Vermahlung Ein Vollmetallmesser ist verfügbar, welches zusammen mit dem Mahlbehälter aus rostfreiem Stahl und einem speziellen „Kryo-Deckel“ verwendet wird
SM 300	< 80 mm	4000 ml	2000 µm	Nur mit 6-Scheibenrotor und Zyklon bei kryogenen Vermahlungen arbeiten Bodensiebe von 2 – 20 mm verwendbar für kryogene Anwendungen

Fazit

Bei einigen Lebensmittelproben ist der Einsatz von Trockeneis oder Flüssigstickstoff als Mahlhilfe die einzige Möglichkeit, eine Probe zu erhalten, die für die nachfolgende Analytik verwendet werden kann. RETSCH bietet verschiedene Labormühlen an, die eine schonende und effiziente Kaltvermahlung des Probengutes ermöglichen und den Kosten- und Arbeitsaufwand deutlich reduzieren. Das entsprechende Zubehör gewährleistet eine sichere Durchführung des Mahlprozesses.