



## АВТОР

Д-р Таня Бутт



Менеджер по оборудованию

Реч ГмбХ  
Реч-Аллее 1-5  
42781 Хаан, Германия

Тел.: 02104/2333-100  
Эл. почта: t.butt@retsch.com

# Криогенное измельчение образцов

## Рекомендации по выбору лабораторных мельниц и аксессуаров для измельчения при охлаждении сухим льдом или жидким азотом

Подготовка образцов твёрдых материалов к химическому или физическому анализу часто требует их тщательного измельчения и гомогенизации. Образец должен достаточно предельно отражать свойства исходного материала, а процесс пробоподготовки должен выполняться с высокой воспроизводимостью. Только в этом случае можно гарантировать получение значимых результатов. Для измельчения большинства материалов до уровня аналитической тонкости при комнатной температуре достаточно выбрать мельницу с подходящим способом измельчения (удар, давление, трение, сдвиг, резание).

Однако у измельчения при комнатной температуре имеются определенные ограничения: например, когда даже незначительное увеличение температуры губительно сказывается на свойствах образца, или если материал достаточно эластичный, то указанные способы приведут не к измельчению, а лишь к деформации образца. В подобных случаях рекомендуется использовать низкотемпературное (криогенное) измельчение. Для этого образец сначала охлаждается **жидким азотом (-196 °С)** или **сухим льдом (-78 °С)** для придания ему достаточной хрупкости, а затем легко измельчается. Данная методика также позволяет сохранить все летучие соединения в составе образца. В настоящем буклете показано, для каких материалов применимо криогенное измельчение, какие лабораторные мельницы лучше всего подходят для этого, а также отражены другие важные моменты, которые необходимо учитывать.

## Для каких материалов рекомендуется криогенное измельчение?

- **Эластичные образцы**

Различные пластмассы (полипропилен, полиэтилентерефталат, полиамид и др.), а также некоторые другие материалы обладают эластичными свойствами и склонны к пластической деформации при измельчении. Это означает, что данные материалы плохо поддаются разделению и, соответственно, крайне неэффективно измельчаются. Гибкие эластомеры, из которых изготавливаются, например, силиконовые формы для выпечки или резиновые автомобильные покрышки, предназначены для использования при комнатной температуре, а температура их охрупчивания гораздо ниже. При погружении такого образца в жидкий азот его температура падает ниже температуры охрупчивания, а стойкость к высоким механическим нагрузкам за счет эластичности или вязкотекучих свойств ухудшается. При дальнейшем измельчении образец демонстрирует хрупкие свойства. Криогенное измельчение также подходит для твердых пластмасс, хотя эти материалы достаточно хрупки и при комнатной температуре. Для обеспечения эффективного измельчения необходимо следить, чтобы температура образца не превышала температуру охрупчивания.



- **Образцы, содержащие летучие соединения**

Материалы, в состав которых входят летучие соединения (такие растворители, как бензин, толуол, полихлорбифенил, пентахлорфенол и др.), отличаются большой трудоёмкостью пробоподготовки, поскольку при увеличении температуры в ходе измельчения можно потерять важные компоненты образца. Увеличение общей площади поверхности частиц материала при измельчении также способствует высвобождению летучих соединений. Снижение температуры с помощью жидкого азота или сухого льда значительно снижает интенсивность испарения отдельных компонентов и способствует охрупчиванию структуры образца. Таким образом, влияние относительного увеличения температуры на летучие соединения при измельчении можно успешно минимизировать.

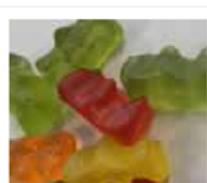
- **Биологические и медицинские образцы**

При пробоподготовке биологических образцов, например, для выделения нуклеиновых кислот из клеток дрожжей, бактерий, растений, а также тканей животных/человека, следует учитывать, что высокая чувствительность образца к изменению температуры может даже привести его в негодность. В подобных случаях криогенное измельчение позволяет, за счет охрупчивания клеток или клеточных стенок, повысить эффективность их расщепления и замедлить дальнейший распад компонентов клеток. Нежелательные химические реакции просто "замораживаются" при погружении образца в жидкий азот, проявляясь лишь позже при оттаивании материала.



• **Липкие или плотные пищевые продукты**

При измельчении липких или плотные материалов, таких как сыр, изюм, жевательный мармелад или марципан, их частицы слипаются, затрудняя гомогенизацию. Криогенное измельчение предотвращает слипание и обеспечивает эффективную гомогенизацию образца, пригодного к дальнейшему анализу.



до измельчения



после измельчения



до измельчения



после измельчения

Области применения						
Образец	Мельница	Размольная гарнитура	Количество исходного материала	Время измельчения	Скорость	Конечная тонкость (d90)
Мармеладные мишки	MM 400	<ul style="list-style-type: none"> <li>2 размольных стакана из нержавеющей стали, объём 50 мл</li> <li>2 мелющих шара из нержавеющей стали, диаметр 25 мм</li> <li>комплект для криогенного измельчения CryoKit, жидкий азот</li> </ul>	10 шт.	1 мин	30 Гц	< 300 мкм
Каучук	CryoMill	<ul style="list-style-type: none"> <li>размольный стакан, объём 50 мл</li> <li>мелющий шар из нержавеющей стали, диаметр 25 мм</li> <li>жидкий азот</li> </ul>	4 г	2 мин	30 Гц	< 500 мкм
Бактерии <i>E. coli</i>	CryoMill	<ul style="list-style-type: none"> <li>размольный стакан, объём 50 мл</li> <li>мелющий шар из нержавеющей стали, диаметр 25 мм</li> <li>жидкий азот</li> </ul>	10 мл замороженные клетки гранулы	2 мин	30 Гц	полное расщепление клеток
Пластмасса в гранулах	ZM 200	<ul style="list-style-type: none"> <li>12-зубчатый быстросъёмный ротор</li> <li>дистанционное сито с размером ячеек 0,5 мм</li> <li>циклон</li> <li>жидкий азот</li> </ul>	40 г	20 с	18 000 об/мин	< 500 мкм
Топливо из переработанных твёрдых отходов	ZM 200	<ul style="list-style-type: none"> <li>12-зубчатый быстросъёмный ротор</li> <li>дистанционное сито с размером ячеек 0,75 мм</li> <li>циклон</li> <li>сухой лёд, 300 г</li> </ul>	150 г	30 с	18 000 об/мин	< 0,75 мм
Жевательный мармелад	GM 300	<ul style="list-style-type: none"> <li>размольный контейнер из нержавеющей стали</li> <li>цельнометаллический нож</li> <li>крышка для измельчения с сухим льдом</li> <li>сухой лёд</li> </ul>	500 г	40 и 20 с	1000 и 4000 об/мин	< 0,8 мм
Резиновая утка	SM 300	<ul style="list-style-type: none"> <li>параллельно-секционный ротор</li> <li>нижняя ситовая вставка с размером ячеек 2 мм</li> <li>жидкий азот</li> </ul>	5 шт.	40 с	3000 об/мин	< 2 мм
Таблетки с жидким наполнителем	RM 200	<ul style="list-style-type: none"> <li>ступка и пест из нержавеющей стали</li> <li>жидкий азот</li> </ul>	40 шт.	3 мин	100 об/мин	< 250 мкм

## Видеоматериалы о криогенном измельчении

- [Криогенная мельница CryoMill: Измельчение лакрицы и пластмасс при охлаждении жидким азотом](#)
- [Ножевая мельница GRINDOMIX GM 300: Измельчение изюма при охлаждении сухим льдом](#)
- [Вибрационная мельница MM 400: Измельчение жевательного мармелада \(мармеладные мишки\) при охлаждении жидким азотом](#)
- [Ультрацентрифужная мельница ZM 200: Измельчение пластмассового гранулята при охлаждении жидким азотом](#)
- [Ультрацентрифужная мельница ZM 200: Измельчение пластмассового гранулята при охлаждении сухим льдом](#)

## Лабораторные мельницы для криогенного измельчения

Выбирая мельницу, подходящую для криогенного измельчения, необходимо учитывать множество факторов. С одной стороны, важную роль играет **объём образца**, с другой - **исходный размер частиц** и **требуемая конечная тонкость**. **Вибрационные мельницы** MM 400 и CryoMill предназначены для измельчения образцов небольшого объёма. Эти мельницы нередко позволяют достигать **большей конечной тонкости** по сравнению с роторными, даже при измельчении трудных для обработки пластмасс, так как в них образец долгое время удерживается внутри герметичного размольного стакана, а в роторных мельницах - в открытой размольной камере. В вибрационных мельницах образец непрерывно охлаждается в течение всего рабочего цикла, а в CryoMill при постоянной температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Роторные, ножевые, режущие мельницы** или **механические ступки** позволяют измельчать материал уже значительно большего объёма с большим размером частиц. Однако способ измельчения этих мельниц, как правило, не позволяет достигать высокой конечной тонкости, особенно при измельчении пластмасс. Ножевая мельница GRINDOMIX GM 300 подходит для криогенного измельчения, в основном, пищевых продуктов, но только с использованием сухого льда, а не жидкого азота, так как этот прибор не рассчитан на температуру  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . **Роторные и режущие мельницы, напротив, позволяют использовать как сухой лёд, так и жидкий азот.** Из-за сверхнизкой температуры жидкий азот особенно подходит для измельчения материалов с температурой охрупчивания ниже  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Преимущество сухого льда перед жидким азотом - меньшая скорость испарения. Кроме того, сухой лёд, смешиваясь с образцом, повышает эффективность охлаждения и, таким образом, особенно подходит для материалов с низкой удельной теплоёмкостью, не способных сохранять низкую температуру, например тонкой полиэтиленовой плёнки. Загрузить образец, смешав его с сухим льдом, как правило, проще, чем экстрагировать его потом из жидкого азота, особенно если размер частиц исходного материала меньше 1 мм. Кроме того, сухой лёд менее опасен при работе по сравнению с азотом, поскольку риск асфиксии в этом случае намного ниже. При измельчении сухой лёд не разбрызгивается, будучи равномерно смешанным с образцом. Однако независимо от вышесказанного, при работе с оборудованием для криогенного измельчения следует соблюдать применимые правила техники безопасности. Ниже представлена линейка лабораторных мельниц для криогенного измельчения.

- **Вибрационные мельницы MM 400 и CryoMill**

Вибрационные мельницы MM 400 и CryoMill идеально подходят для гомогенизации образцов небольшого объёма с максимальным размером частиц 8 мм. Данные мельницы оснащаются одним и двумя размольными местами соответственно, в которых надёжно закрепляются размольные стаканы с завинчивающимися крышками, куда, в свою очередь, помещаются мелющие шары и образцы. Образец в закрытом размольном стакане охлаждается жидким азотом.

Размольные стаканы для мельниц **MM 400** изготовлены из **стали или тефлона**; также предлагаются одноразовые прибирки объемом 1.5, 2 и 5 мл. Необходимо следить за тем, чтобы жидкий азот не попал внутрь размольных стаканов, так как под действием трения при измельчении азот нагревается и переходит в газообразную фазу, что приводит к значительному увеличению давления внутри стакана. Закрытый размольный стакан с помощью щипцов помещается в ёмкость с жидким азотом на 2-3 мин, после чего устанавливается в мельницу MM 400. Из-за высокой энергии измельчения температура внутри размольного стакана возрастает, поэтому измельчение не должно занимать больше 3 мин. во избежание перегрева образца и изменения его свойств. Если требуется длительное измельчение, процесс необходимо периодически прерывать для охлаждения размольных стаканов.

В отличие от **MM 400**, **CryoMill** позволяет осуществлять **непрерывное охлаждение жидким азотом**, снижая температуру размольного стакана и образца  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  за считанные минуты. Таким образом, поддержание **температуры  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$**  обеспечивается даже в течение долгого времени без необходимости периодически останавливать работу мельницы. Кроме того, поскольку персонал на всех этапах работы не вступает в контакт с жидким азотом, мельницы CryoMill отличаются исключительной безопасностью и удобством. Благодаря автоматической функции предварительного охлаждения измельчение начинается только по достижении температуры  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . В качестве размольной гарнитуры без содержания тяжёлых металлов предлагаются размольные стаканы из оксида циркония.



Вибрационная мельница  
MM 400



Криогенная мельница  
CryoMill с сосудом Дьюара  
для азота объёмом 50 л



Ультрацентрифужная  
мельница ZM 200 с циклоном

- **Ультрацентрифужная мельница ZM 200**

Ещё одна модель, отлично подходящая для криогенного измельчения, - ультрацентрифужная мельница ZM 200, позволяющая измельчать образцы большего объёма, по сравнению с вибрационными мельницами. **Эта высокоскоростная роторная мельница позволяет измельчать даже некоторые эластомеры, например полистирол, не требуя охлаждения.** Однако в большинстве случаев все же требуется придание большей хрупкости измельчаемому материалу. Образец, в виде гранулята или предварительно размолотых изделий, погружается в ёмкость с жидким азотом, а затем медленно и равномерно подается в мельницу ZM 200 металлической дозирующей ложкой через загрузочную воронку. Если образец отличается высоким содержанием жиров или чувствительностью к температуре, для повышения эффективности измельчения рекомендуется охрупчивание, поскольку охлаждение предотвращает воздействие повышенной температуры на образец. При использовании сухого льда его сначала смешивают с образцом в пропорции 2:1, а затем полученная смесь подается в мельницу ZM 200. Сухой лёд, то есть чистый диоксид углерода в твёрдой фазе, в дальнейшем полностью испаряется из образца. Мы рекомендуем использовать **циклон**, для более эффективного отведения диоксида углерода и остатков жидкого азота в процессе измельчения.

- **Режущая мельница SM 300**

Вышеуказанные факторы, которые следует учитывать при выборе оборудования для измельчения, также важны при использовании режущей мельницы SM 300. Данная мельница особенно подходит для **прочных образцов**, например обувной подошвы или битума, и позволяет измельчать образцы с большим размером частиц, по сравнению с мельницей ZM 200. Эта мельница подходит даже для гомогенизации грубо измельчённых и охрупченных автомобильных покрышек. Поскольку охрупченные образцы достаточно твёрдые, рекомендуется использовать 6-дисковый ротор, принцип действия которого подобен шредеру. Мельница также подходит для измельчения **образцов неоднородного состава**, например **замороженных кур, даже с костями**. Для измельчения **тонкой полиэтиленовой плёнки**, которая нередко входит в состав топлива из переработанных твёрдых отходов, рекомендуется использовать сухой лёд, так как он обеспечивает непрерывное охлаждение в ходе измельчения.

- **Ножевая мельница GRINDOMIX GM 300**

Для эффективной гомогенизации **липких и плотных пищевых продуктов**, например сыра, изюма, жевательного мармелада или марципана, идеально подходит ножевая мельница GRINDOMIX GM 300. Даже **шоколад**, который при комнатной температуре вместо измельчения превращается в вязкую массу, **легко измельчается после охлаждения**. Образец смешивается с сухим льдом в пропорции 1:2, а затем, после нескольких минут охлаждения, выполняется измельчение. Сухой лёд позволяет поддерживать низкую температуру образца в ходе измельчения. С мельницей GM 300 не рекомендуется использовать какие-либо пластмассовые аксессуары, так как воздействие низких температур может повредить их. Рекомендуется использовать **размольную ёмкость из нержавеющей стали, цельнометаллический нож и крышку для измельчения с сухим льдом**.

- **Механическая ступка RM 200**

В механической ступке измельчение осуществляется под действием давления и трения и продолжается до достижения требуемой конечной тонкости. Механическая ступка RM 200 не является полностью закрытой системой: в процессе измельчения можно добавлять сухой лёд или жидкий азот через специальное отверстие в крышке. Для криогенного измельчения необходимо использовать ступку и пест из нержавеющей стали. Механическая ступка позволяет эффективно измельчать такие образцы, как, например, **таблетки с жидким наполнителем**.



Ножевая мельница  
GRINDOMIX GM 300 с  
размольной камерой из  
нержавеющей стали

Характеристики мельниц RETSCH для криогенного измельчения				
Мельница	Размер частиц исходного материала <sup>1 2</sup>	Макс. объем образца <sup>1 2</sup>	Конечная тонкость <sup>1 2</sup>	Примечания
CryoMill	< 8 мм	1x20 мл	50 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Непрерывное измельчение в криогенных условиях</li> <li>Персонал не вступает в контакт с жидким азотом</li> <li>Опция для криогенного измельчения: размольный стакан из оксида циркония</li> </ul>
MM 400	< 8 мм	2x20 мл	100 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Предварительно охрупченный образец помещается в герметичный размольный стакан из нержавеющей стали или тефлона</li> <li>Может потребоваться периодическое охлаждение</li> </ul>
ZM 200	< 10 мм	4000 мл	300 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Охлаждение жидким азотом, например образцов с температурой охрупчивания &lt; -80°C</li> <li>Сухой лёд идеально подходит для материалов с низкой удельной теплоёмкостью</li> <li>Сухой лёд главным образом подходит для образцов с размером частиц &lt; 1 мм</li> <li>Использование циклона строго обязательно</li> </ul>
GM 300	< 40 мм	2000 мл	500 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Сухой лёд идеально подходит для материалов с низкой удельной теплоёмкостью</li> <li>Сухой лёд охлаждает образец в ходе измельчения</li> <li>Цельнометаллический нож и размольная ёмкость из нержавеющей стали, а также специальная крышка</li> </ul>
SM 300	< 80 мм	4000 мл	2000 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Криогенное измельчение только при использовании 6-дискового ротора и циклона</li> <li>Нижние ситовые вставки с размером ячейки 2–20 мм для криогенных мельниц</li> </ul>
RM 200	< 8 мм	<190 мл	10 мкм	<ul style="list-style-type: none"> <li>Сухой лёд или жидкий азот можно добавлять прямо в процессе измельчения</li> <li>Необходимо использовать ступку и пест только из нержавеющей стали</li> </ul>

<sup>1</sup> В зависимости от материала образца и параметров измельчения

<sup>2</sup> Объем может отличаться при использовании размольной гарнитуры, не подходящей для криогенного измельчения

## Заключение

Для многих материалов измельчение при охлаждении жидким азотом или сухим льдом является единственным возможным способом эффективной пробоподготовки. Компания RETSCH предлагает линейку лабораторных мельниц для бережного и вместе с тем эффективного криогенного измельчения. Использование криогенных мельниц значительно сокращает эксплуатационные расходы и трудозатраты. Широкий спектр аксессуаров обеспечивает исключительную безопасность работы.