



AUTORIN

Dr. Tanja Butt



Produktmanagerin

Retsch GmbH
 Retsch-Allee 1-5
 D-42781 Haan

Telefon: +49 (0) 2104/2333-100
 E-Mail: t.butt@retsch.de

www.retsch.de

Cannabis – von der illegalen Droge zum medizinischen Wundermittel

Reproduzierbare Probenvorbereitung von Cannabis-Pflanzen und verwandten Produkten

Cannabis wird als sogenannte „weiche“ Droge klassifiziert, womit sie als Einstieg für „härtere“ Drogen wie Heroin oder Kokain gilt, da die Hemmschwelle für den Konsum solch harter Drogen sinken kann. Der Besitz von Cannabis wurde 1925 weltweit verboten, heute jedoch ist der begrenzte Konsum in vielen Ländern wie Kanada, Tschechien oder Israel erlaubt. Uruguay legalisierte 2013 als erstes Land weltweit den Anbau und Verkauf von Cannabis. Da die medizinischen Vorteile des Cannabiskonsums in zahlreichen Studien nachgewiesen werden konnten¹, haben mittlerweile einige Länder mit der schrittweisen Legalisierung unter strengen Kontrollen begonnen. In 29 Staaten der USA wurde der Ankauf von Cannabis für medizinische Zwecke 2016 erlaubt, Deutschland folgte ein Jahr später.

Die positiven Effekte von Cannabis für die Gesundheit lassen sich in fünf Gruppen einteilen: 1. Schmerz/Schlaf; 2. Gastro-intestinal; 3. Neurologisch; 4. Stimmung/Verhalten und 5. Andere. Die Hauptinhaltsstoffe von Cannabis sind Cannabinoide wie Tetrahydrocannabinol (THC), Cannabinol (CBN) oder Tetrahydrocannabivarin (THCV), welche zum Beispiel als Appetitzügler, Betäubungsmittel oder psychoaktive Substanzen wirken. Sie haben darüber hinaus positive Auswirkung auf Stoffwechselerkrankungen, dienen als Schmerzmittel oder Entzündungshemmer und werden sogar bei der

¹ <http://www.cannabis-med.org/german/studies.htm>



Abb. 1: Schneidmühle SM 400 XL

Behandlung von multiresistenten Bakterien eingesetzt. Auch bei der Therapie von Erkrankungen wie Krebs, Tourette-Syndrom, Arthrose, HIV, Asthma, Alzheimer oder Multiple Sklerose konnten durch den Konsum von Cannabis Verbesserungen erzielt werden. Eine weitere wichtige Gruppe von Inhaltsstoffen sind die Terpene wie Linalool, α -Pinene, oder D-Limonene.

Eine Wirkung der Terpene ist der sogenannte "Entourage Effekt", was bedeutet, dass sich die Terpene positiv auf die Bioverfügbarkeit der Cannabinoide auswirken können, z. B. bei der Überwindung der Blut-Hirn-Schranke. Terpene werden darüber hinaus auch als antioxidative oder entzündungshemmende Mittel eingesetzt.

Der Fokus der Qualitätskontrolle von Cannabis und den daraus resultierenden Produkten liegt auf der Messung der Konzentrationen von Cannabinoiden und Terpenoiden, was üblicherweise mittels HPLC geschieht. Auch die Konzentration der Pestizide in den Hanfpflanzen und weiterverarbeiteten Produkten ist von Interesse. Essbare Formen von Cannabis sind zum Beispiel gemahlene Blätter, Konzentrate oder verarbeitete Lebensmittel wie Kekse oder Gummibärchen. Um die Reproduzierbarkeit der Qualitätsprüfung zu gewährleisten, muss die Probenvorbereitung und Homogenisierung an diese unterschiedlichen Probenmatrizes angepasst werden, wobei verschiedene Hürden zu nehmen sind: Die Proben können klebrig, ölig oder faserig sein, außerdem schwankt die Probenmenge erheblich.

Trotz der vermehrten Anwendung von Cannabis im medizinischen Bereich, handelt es sich nach wie vor in den meisten Ländern um eine illegale Droge, deren Besitz und Verkauf strafbar ist. Daher spielt nicht nur die Qualitätskontrolle im Hinblick auf medizinische Anwendungen eine Rolle, sondern auch die Untersuchung im strafrechtlichen Kontext. Für die gerichtliche Verhandlung von Drogendelikten werden Wirkstoffgutachten erstellt, da sich das Strafmaß für Drogenbesitz an der Menge des Wirkstoffs orientiert. So gilt zum Beispiel bei Cannabis ein Wirkstoffanteil von mehr als 7,5 g Tetrahydrocannabinol (THC) als „nicht geringe Menge“. Solche Gutachten werden in der Regel durch das zuständige Landeskriminalamt (LKA) erstellt. Dazu muss die Probe vor der Extraktion und Analyse zerkleinert werden.

Vorzerkleinerung von getrockneten Hanfpflanzen in der Schneidmühle SM 400 XL

Die Schneidmühle SM 400 XL weist ein Mahlraumvolumen von 7,5 l auf und verarbeitet Probenstücke bis 170 x 220 mm Größe, wodurch auch große Probenmengen in kürzester Zeit vermahlen werden können. Eine manuelle Vorzerkleinerung der Proben ist in der Regel nicht nötig. Dank der großen Trichteröffnung, des Mahlraumvolumens und der 240 x 240 mm Bodensiebe ist ein höherer Durchsatz möglich als in kleineren Schneidmühlen. Zudem kann die SM 400 XL, in Abhängigkeit des Probenmaterials, Endfeinheiten bis 1 mm erreichen. 100 kg getrocknete Hanfpflanzen mit einer Ausgangsgröße bis 60 mm wurden innerhalb von 60 min unter Verwendung eines 20 mm Bodensiebes auf eine Feinheit <20 mm vermahlen. Die SM 400 XL ist die einzige Mühle, in der diese Menge an faseriger Probe ohne Blockaden im Trichter durch sich verkeilende Probenteile vermahlen werden kann. Das vorzerkleinerte Material kann dann beispielsweise in der Ultra Zentrifugalmühle ZM 300 pulverisiert werden, oder auch direkt gerollt bzw. in entsprechende Objekte gegeben und geraucht werden.



Abb. 2: Hanfprobe vor (li.) und nach (re.) der Zerkleinerung in der SM 400 XL



Abb. 3: Ultra-Zentrifugalmühle ZM 300

Homogenisierung von Proben in der Ultra Zentrifugalmühle ZM 300

Die neue Ultra-Zentrifugalmühle ZM 300 eignet sich bestens für die Pulverisierung von Granulaten wie Mais oder von faserigen Proben wie Pflanzenteile. Diese Rotormühle erreicht eine Geschwindigkeit von 23.000 min^{-1} und kann zur perfekten Anpassung an die Probenmatrizes mit einer Vielzahl von Zubehör ausgestattet werden. Durch die Scherkräfte zwischen Rotor und Ringsieb werden faserige Proben hervorragend homogenisiert. Hanffasern enthalten Öl, was das Material temperaturempfindlich macht. Für solche Proben sollte ein Distanzsieb verwendet werden: eine kleine Lücke zwischen dem Sieb und dem Rotor reduziert die Scherkräfte, so dass sich die Probe nur wenig erwärmt. 20 g der vorzerkleinerten Hanfprobe konnten in der ZM 300 mit einem 0,5 mm Distanzsieb bei 23.000 min^{-1} innerhalb weniger Sekunden auf 0,5 mm zerkleinert werden. Durch die Verwendung des Zyklons wird das Probenmaterial besser aus dem Mahlraum ausgetragen, und der entstehende Luftstrom liefert einen zusätzlichen Kühleffekt. In der pulverisierten Probe können Pestizide dann z. B. nach der QuEChERS Methode extrahiert werden.



Abb. 4: Vorzerkleinerte Hanfprobe (li), nach Pulverisierung in der ZM 300 (re.)

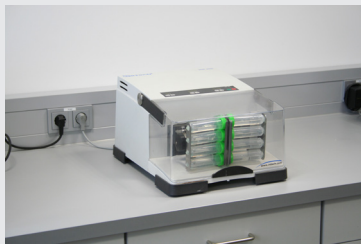


Abb. 5: Schwingmühle MM 400 mit Adapter für konische Zentrifugalröhrchen

Pestizidextraktion mit der Schwingmühle MM 400 (QuEChERS Methode)

Die sogenannte QuEChERS Methode ("Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe") wurde zur Effizienzsteigerung bei der Pestizidextraktion entwickelt. Die Methode umfasst drei Schritte: 1. Homogenisierung, 2. Extraktion, 3. Analyse. Während der Homogenisierung muss darauf geachtet werden, dass die Probe möglichst wenig erwärmt wird, da einige Pestizide temperaturempfindlich oder flüchtig sind. Nach der Homogenisierung werden 10 g der pulverisierten Hanfprobe mit 10 ml Acetonitril extrahiert. Im folgenden Schritt wird die organische Phase getrocknet und mittels chromatografischer Methoden analysiert. Um Geisterpeaks in den Chromatogrammen zu vermeiden, wird die Probe unter Beimengung von Salzen - Natriumchlorid und Magnesiumsulphat im Verhältnis 1:2 - extrahiert. Zur Überführung der Pestizide von der Probe in die organische Phase wird die pulverisierte Probe für 1-3 Minuten zusammen mit dem Acetonitril und den Salzen rigoros geschüttelt. Diesen Schritt vereinfacht die Schwingmühle MM 400 von RETSCH. Bis zu 8 Proben werden in 50 ml Falcontubes bei einer Frequenz von 30 Hz für die benötigte Zeit geschüttelt. Manuelle Fehlerquellen sind ausgeschlossen, die Probe wird immer gleich geschüttelt. Dadurch lässt sich die Effizienz und die Reproduzierbarkeit der Extraktion deutlich steigern.

Pulverisierung von Hanf in der CryoMill zur anschließenden Pestizidextraktion

Die Pestizidextraktion mit der QuEChERS Methodik lässt sich optimieren, wenn Proben auf $<0,5 \text{ mm}$ homogenisiert werden. Durch die klebrig-ölgigen Probeneigenschaften von Hanf, kann die Ultra-Zentrifugalmühle diese Feinheiten nur schwer erreichen. Wird die Probe jedoch beispielsweise mit flüssigem Stickstoff versprödet, verbessert das die Brucheneigenschaften deutlich. Eine speziell für diese Anwendung konzipierte Mühle ist die CryoMill von RETSCH, die den Mahlbecher und somit auch die Probe kontinuierlich mit flüssigem Stickstoff kühlt und versprödet. In der CryoMill kann auch die Hanfprobe problemlos auf $<0,1 \text{ mm}$ vermahlen werden, was zu einer höheren Pestizidkonzentration in der Extraktion führt. 5 g vorzerkleinerte Hanfprobe wurde im 50 ml Mahlbecher aus rostfreiem Stahl mit einer 25 mm Stahlkugel vermahlen. Nach



Abb. 6: CryoMill mit 50 l LN₂ Behälter

Aufgabe von Probe und Kugel in den Mahlbecher wurde dieser fest verschlossen und in die Mühle eingespannt. Die automatische Vorkühlfunktion der CryoMill sichert die vollständige Durchkühlung der Probe auf -196°C bevor die Vermahlung startet. In diesem Fall war eine Vorkühlzeit von 3 min bei 5 Hz ausreichend, die Vermahlung selbst wurde für 3 min bei 30 Hz durchgeführt. Dank des Autofill Systems der CryoMill wird eine Temperaturkonstanz bei -196°C erreicht und der Anwender kommt nie in Kontakt mit flüssigem Stickstoff, was die Anwendung sehr sicher macht. Die CryoMill vermahlt die Hanfprobe auf Feinheiten von $< 0,1$ mm, was die nachfolgende Extraktion ergiebiger macht. Für größere Probenmengen ist die ZM 300 eine gute Wahl.

Abb. 7:
Die in der CryoMill pulverisierte Hanfprobe (li.) liefert nach der Extraktion einen höheren Pestizidgehalt als die Probe, die in der ZM 300 homogenisiert wurde (re.).



Homogenisierung von Lebensmitteln in Kugelmühen wie der MM 400 oder der CryoMill

Fettige oder klebrige Lebensmittelproben neigen zu Verklumpungen wenn sie bei Raumtemperatur vermahlen werden, daher ist eine kryogene Aufbereitung in der MM 400 oder der CryoMill notwendig. Diese Mühlen sind hervorragend zur Homogenisierung kleinerer Probenmengen, wie z.B. 1-2 Kekse oder ein paar Gummibärchen, geeignet. In der MM 400 können Proben bis 2×20 ml in 1-2 Minuten pulverisiert werden. Wichtig ist es, die Proben zusammen mit der Mahlkugel in den Mahlbecher zu geben und diesen dann fest zu verschließen, bevor eine Versprödung mit flüssigem Stickstoff stattfindet. Dabei darf kein LN_2 in den Mahlbecher gelangen, denn die Verdampfung des Kühlmittels würde zu einem starken Überdruck im Mahlbecherinneren führen. Die verschlossenen Mahlbecher, und damit auch die Probe, werden zur Versprödung 2-3 Minuten in ein Bad gefüllt mit flüssigem Stickstoff getaucht. Die Mahlbecher sind aus rostfreiem Stahl oder PTFE erhältlich. Die Vermahlung sollte nicht länger als 1-2 Minuten dauern, um ein Erwärmen der Probe im Mahlbecherinneren zu vermeiden. Falls längere Mahldauern nötig sind, kann der Mahlvorgang durch Kühlpausen unterbrochen werden, während der die Mahlbecher für 1-2 Minuten wieder in das Bad mit flüssigem Stickstoff gelegt werden. 5 Gummibärchen wurden in der MM 400 im 50 ml Mahlbecher aus rostfreiem Stahl mit einer 25 mm Mahlkugel aus rostfreiem Stahl pulverisiert. Die Kühldauer im LN_2 Bad betrug 4 min. Der eigentliche Mahlvorgang dauerte 90 Sekunden bei 30 Hz. Die erreichte Endfeinheit lag bei 0,3 mm.

Die Vermahlung derartiger Proben in der CryoMill ist vorteilhaft, da eine kontinuierliche Versprödung bei Temperaturkonstanz von -196°C gewährleistet ist. Die Entnahme des Mahlbeckers für Zwischenkühlungen ist überflüssig. Für schwermetallfreie Vermahlungen steht für die CryoMill außerdem ein Mahlbecher aus Zirkonoxid zur Verfügung.



Abb. 8: Gummibärchen vor (li.) und nach der Kryogenvermahlung in der CryoMill (re.)


 Abb. 9: Messermühle GRINDOMIX
 GM 200

Homogenisierung von Keksen in der Messermühle GM 200

Die Messermühle GM 200 wurde speziell für die Homogenisierung von Proben mit hohem Fett-, Wasser- oder Zuckergehalt konzipiert. Sie akzeptiert Probenmengen bis 700 ml. Dank des starken 1000 W Motors können auch besonders schwierige Proben in maximal zwei Schritten ohne Blockaden des Messers homogenisiert werden. Die innovative Boostfunktion erlaubt eine temporäre Erhöhung der Drehzahl auf 14.000 min^{-1} , so dass zusätzliche Leistung zur Vermahlung schwierigster Proben zur Verfügung steht. Die Mühle kann zur Anpassung an unterschiedlichste Materialanforderungen in drei Modi betrieben werden: Standardmodus = Schneiden, Reversierbetrieb = Schlagen, Intervallmodus = optimale Durchmischung der Probe. Bis zu 8 Programme kann der Anwender speichern, sowie bis zu 4 Programmsequenzen. Das ist ideal wenn der Mahlprozess in zwei Schritten erfolgt, z. B. eine Kombination unterschiedlicher Drehzahlen oder aus Reversierbetrieb zur Vorzerkleinerung mit Standardmodus für die Feinzerkleinerung. Die vollständige Pulverisierung von 8 großen Keksen erfolgte in zwei Schritten: Im Vorzerkleinerungsschritt wurde der Intervallbetrieb bei 4.000 min^{-1} für 10 Sekunden gewählt. Die Verwendung des Standarddeckels erlaubt eine gute Durchmischung der Probe im Mahlcontainer, wodurch auch eine Erwärmung der Probe mit anschließendem Fettaustritt und Verklumpung der Probe verhindert wird. Die Probe wurde dann innerhalb von 35 Sekunden bei 10.000 min^{-1} vollständig homogenisiert. In diesem zweiten Schritt ist die Verwendung des Volumenreduktionsdeckels 0,5 l sinnvoll, um die Probe kontinuierlich gegen die Klingen zu führen. Insgesamt wurde in weniger als 1 Minute eine homogene Probe mit Korngröße 0,5 mm erzeugt.



Abb. 10: Kekse vor (oben) und nach der Vermahlung in der GM 200 (unten)

Aus der Praxis

Homogenisierung von großen Mengen Cannabis in der Messermühle GM 300 beim LKA Dresden

Zur Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in Cannabismaterial werden im Labor des LKA Dresden die Pflanzen zunächst zerkleinert und anschließend mehrere Teilproben des fein zerkleinerten Materials extrahiert. Die Extrakte werden dann gaschromatographisch untersucht. „Häufig haben wir es mit großen Probenmengen zu tun“, sagt Thomas Paulick, Laborleiter beim Landeskriminalamt Dresden. „Hierbei ist wichtig, dass aus der Gesamtprobe eine repräsentative Menge entnommen wird, um den Wirkstoffgehalt zuverlässig bestimmen zu können. Durch die Verwendung der GM 300 von RETSCH wurde diese Anforderung erfüllt: aus bis zu 4 Litern Pflanzenmaterial erhielten wir eine homogene Probe, von der wir dann etwa 0,5 g für weitere Analysen entnehmen konnten. Sowohl Blattwerk mit Resten dünnen Stängelmaterials als auch harzreiche Blütenstände ließen sich – auch ungekühlt – verarbeiten. Drehzahl und Mahldauer wurden je nach Beschaffenheit der Pflanzen angepasst. Die geschlossene Bauform sowie der abnehmbare Mahlbecher trugen zur Minimierung der Staubbelastung während des Homogenisierens bei. Insgesamt hat sich die GM 300 für unsere Anforderungen als sehr geeignet erwiesen.“



Fazit

Mit zunehmender Popularität von Cannabis im Medizinsektor wird die Qualitätskontrolle ebenfalls an Bedeutung gewinnen. Zur Gewährleistung von reproduzierbaren und aussagekräftigen Laboranalysen ist eine gute Probenvorbereitung essentiell. RETSCH bietet hierfür eine Vielzahl geeigneter Mühlen an.

Besuchen Sie uns auf
www.retsch.de