



Reproduzierbare Probenvorbereitung für die zuverlässige Lebensmittelanalytik

Wie aus einer Laborprobe eine repräsentative Teilprobe mit homogener Analysenfeinheit wird

Dr. Tanja Butt

Retsch GmbH

Lebensmittel treten in unterschiedlicher Konsistenz auf und sind häufig inhomogen. Lebensmittelabore benötigen repräsentative Proben, um aussagekräftige und reproduzierbare Analyseergebnisse zu erhalten. Daher müssen Nahrungsmittelproben homogenisiert und auf die erforderliche Analysenfeinheit zerkleinert werden, idealerweise mit möglichst wenig Zeit- und Arbeitsaufwand. Zuverlässige Analyseergebnisse sind nur dann gewährleistet, wenn der gesamte Probenvorbereitungsprozess reproduzierbar abläuft. Das heißt die aufbereitete Teilprobe, von der oft nur wenige Gramm oder Milligramm für die Analyse benötigt werden, muss sowohl die Laborprobe als auch die Ausgangsprobe repräsentieren. Bei einer inhomogenen Probe wäre dies nicht der Fall, da einige Bestandteile der Ausgangsprobe überrepräsentiert sein können oder sogar ganz fehlen. Darum ist eine homogene Probe die Basis für zuverlässige und repräsentative Analyseergebnisse.

Ein gutes Beispiel für die Bedeutung der Probenhomogenität ist die Fettbestimmung von Pizza. Für die Analyse werden nur wenige Milligramm Pizza benötigt. Bei einer zufälligen Probenahme könnte die Probe nur ein Stück Pilz, Salami oder Käse enthalten, was den gemessenen Gesamtfettgehalt verfälschen würde (Abb. 1). Wenn die Pizza zunächst auf eine Partikelgröße von <5 mm und im nächsten Schritt auf <0,5 mm vermahlen wird, erhält man eine homogene und repräsentative Analysenprobe. Die Stan-

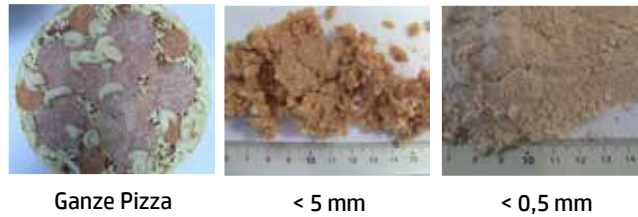


Abb. 1: Von links nach rechts: komplette Pizza; Vorzerkleinerung auf <5 mm; Endfeinheit <0,5 mm

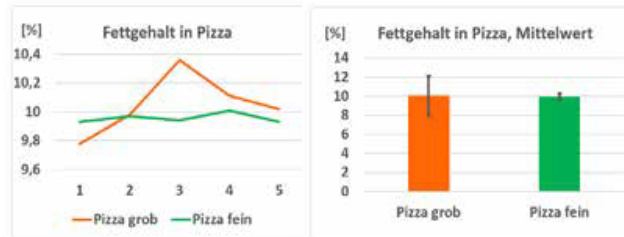


Abb. 2: Links: während der Fettgehalt in den gröberen Pizza-proben variiert, ist er in den homogenisierten Proben stabil; rechts: Mittelwerte à 5 Proben; durch Homogenisierung verringert sich die relative Standardabweichung des Fettgehalts von 2,1% auf 0,35%

dardabweichung (SA) jeder nachfolgenden Analytik lässt sich durch Partikelgrößenreduktion und Homogenisierung der Analysenprobe drastisch reduzieren. Bei der Pizzaprobe wurde der Fettgehalt bestimmt (Abb. 2). Bei Partikelgrößen von ca. 5 mm variiert der Gehalt, während er in den homogenisierten Proben wesentlich gleichmäßiger ist. Die Standardabweichung verringert sich von 0,21% auf 0,03% (relative SA von 2,1% auf 0,35%).

1. Auswahl einer geeigneten Labormühle mit Zubehör

Bei der Auswahl einer geeigneten Labormühle sowie des Zubehörs dürfen die zu bestimmenden Probeneigenschaften, wie z. B. Feuchte- oder Schwermetallgehalt, durch den Mahlprozess nicht verändert werden. Wichtige Aspekte, wie z. B. die Größe der

Probe, sollten bei der Wahl des Modells berücksichtigt werden. Es macht einen großen Unterschied, ob es sich bei der zu vermahlenden Probe um einen kompletten Fisch oder nur einige Getreidekörner handelt. Mühlen, die für größere Aufgabegrößen ausgelegt sind erreichen in der Regel nicht die Endfeinheiten, die für die nachfolgende Analytik benötigt werden. Ein weiterer wichtiger Faktor sind die Materialeigenschaften: um einen Zerkleinerungseffekt zu erzielen, muss der Zerkleinerungsmechanismus der Mühle auf das Bruchverhalten der Probe abgestimmt sein. Daher sollten Eigenschaften wie Dichte, Härte, Konsistenz, Restfeuchte oder Fettgehalt bei der Wahl der Mühle berücksichtigt

werden. Weitere Merkmale, die den Erfolg der Vermahlung beeinflussen können, sind die Temperaturbeständigkeit des Materials oder die Neigung zur Agglomeration.

Labormühlen arbeiten mit unterschiedlichen Zerkleinerungsmechanismen. Druck, Prall und Reibung sind zum Beispiel für die Vermahlung harter und spröder Proben besonders gut geeignet. Bei faserigen, weichen oder elastischen Proben zeigen diese Effekte dagegen nur eingeschränkte Wirkung. Ein gefriergetrockneter Fisch lässt sich z. B. nicht durch Druck oder Prall zerkleinern, sondern erfordert Schneid- und Schereffekte. Die Kapazität der Mühle sowie der mögliche Probendurchsatz spielen ebenfalls eine entscheidende Rolle. Mehrere Kilo Weizen lassen sich in einer

Rotormühle wesentlich schneller vermahlen als z. B. in einer Schwingmühle, die über eine maximale Mahlbechergöße von 50 ml verfügt. Letztlich hat auch der Werkstoff der Mahlwerkzeuge großen Einfluss auf die Mahleffizienz. Dieser sollte härter sein als die Probe, um übermäßigen Verschleiß zu verhindern. Bezogen auf Lebensmittelproben trifft dies auf fast alle Werkstoffe zu, in denen die Mahlwerkzeuge erhältlich sind. Die mechanische Zerkleinerung verursacht immer einen gewissen Grad an Abrieb, der die nachfolgende Analyse verfälschen kann. Dementsprechend können Spuren von Stahl oder Zirkonoxid in der Probe gefunden werden, wobei die Menge in der Regel unter der Nachweisgrenze liegt und darum vernachlässigt werden kann. Unabhängig vom ausgewählten Werkstoff hat auch die Auswahl des Zubehörs entscheidenden Einfluss auf den Mahlprozess.

1.1. Trocknen oder Verspröden der Probe

Feuchte oder sogar nasse Proben können nur in Messermühlen ohne unerwünschte Nebeneffekte, wie Blockade der Mühle oder Materialverlust, aufbereitet werden. Um die Probe in einem anderen Mühlentyp ohne diese Effekte zu vermahlen, sollte die Probe vor der weiteren Verarbeitung getrocknet werden. Die Trocknungsmethode und Temperatur sollte so gewählt werden, dass die zu bestimmenden Probeneigenschaften nicht verändert werden. Das gilt besonders für temperaturempfindliche oder flüchtige Probenbestandteile. Solche Proben sollten nur bei Raumtemperatur luftgetrocknet werden. Der Schnell-trockner TG 200 eignet sich für die schonende und schnelle Trocknung zahlreicher Materialien.

Weiche, zähe, klebrige oder fettige Produkte, wie Schokolade oder Rosinen, sollten vor der Zerkleinerung gekühlt werden. Diese lassen sich kryogen vermahlen, während sie ohne Kühlung nur zu einer wenig homogenen Paste verarbeitet würden. Eine Möglichkeit ist die Versprödung der Probe mit Flüssigstickstoff (LN₂); bei einer Temperatur von -196 °C werden sogar Gummibärchen so

hart und spröde, dass sie problemlos pulverisiert werden können. Die Probe kann auch durch Mischen mit Trockeneis (festes CO₂) versprödet werden. Für Proben, die flüchtige Bestandteile enthalten ist die Kryogenvermahlung ebenfalls die Methode der Wahl. Stoffe, die nicht feucht werden dürfen, sind dagegen für den direkten Kontakt mit einem Kühlmittel ungeeignet, da die Luftfeuchtigkeit an der kalten Probe kondensiert.

2. Welche Labormühlen sind für die Aufbereitung von Lebensmittelproben geeignet?

In der Regel gibt es nicht nur einen Mühlentyp, der für die Vermahlung einer bestimmten Probe geeignet ist. Wie eingangs schon erwähnt, hängt die Auswahl u. a. von der Probenmenge, der benötigten Endfeinheit, dem Durchsatz, den Materialeigenschaften und der nachfolgenden Analytik ab. Basiswissen zum Funktionsprinzip der einzelnen Mühlenarten ist eine wichtige Voraussetzung, um das optimale Gerät auszuwählen.

2.1. Rotormühlen

Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200

Geeignet für: Erbsen, Gelatine, getrocknete Algen, getrocknete Blätter, Gewürze, Kaffee, Kokosnuss, Kräuter, Mais, Mandeln, Nüsse, Reis, Salz, Samen, Sojamehl, Tee, Trockenfisch, Weizen, Wurzeln, Zucker usw.

Die Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 wird für die schnelle Feinzerkleinerung weicher, mittelharter, spröder und faseriger Materialien eingesetzt. Die Zerkleinerung erfolgt durch Prall- und Scherkräfte zwischen dem Ringsieb und dem horizontalen Rotor. Die maximale Aufgabegröße liegt bei 10 mm. Je nach Probenmaterial erreicht die ZM 200 eine Endfeinheit von 40 µm (d₉₀) und darunter, vor allem bei maximaler Drehzahl. Das ist die maximale mit einer Rotormühle erreichbare Endfeinheit. Sie wird durch die Öffnungsweiten der auswechselbaren Ringsiebe bestimmt, die von 0,08 mm bis 10 mm reichen. Die Drehzahl lässt sich bei der ZM 200 zwischen 6.000 und 18.000 min⁻¹ einstellen. Das Kassettenprinzip ermöglicht eine Vermahlung ohne

Probenverlust sowie eine schnelle und einfache Reinigung. Für die automatische, gleichmäßige Zufuhr größerer Schüttgutproben empfiehlt sich der Einsatz des Zuteilgerätes DR 100. Bei Vermahlung größerer Mengen oder temperaturempfindlicher Proben ist die Nutzung eines Zyklons mit 3-Liter oder 5-Liter Auffangbehälter sinnvoll. Der Zyklon bewirkt eine bessere Abfuhr der beim Zerkleinerungsprozess entstehenden Reibungswärme und sorgt damit für eine Kühlung der Probe.

Schlagrotormühle SR 300

Geeignet für: Erbsen, Gelatine, getrocknete Algen, getrocknete Blätter, Gewürze, Kaffee, Kokosnuss, Kräuter, Mais, Mandeln, Nüsse, Reis, Salz, Samen, Sojamehl, Tee, Trockenfisch, Weizen, Wurzeln, Zucker usw.

Die Schlagrotormühle SR 300 zerkleinert weiche, mittelharte und spröde Materialien mit einer maximalen Aufgabegröße von 25 mm. Die Endfeinheit wird durch die Öffnungsweiten der auswechselbaren Ringsiebe bestimmt (0,08 mm bis 10 mm) und liegt bei maximal 50 µm, je nach Probenmaterial. Die Zerkleinerung erfolgt durch Prall- und Scherkräfte. Die Drehzahl lässt sich zwischen 3.000 und 10.000 min⁻¹ einstellen. Das Zuteilgerät DR 100 kann bei größeren Probenmengen für die automatische Zufuhr verwendet werden. Im Gegensatz zu anderen Rotormühlen bewältigt die SR 300 Probenmengen bis 30 Liter in einem Arbeitsschritt.

Zyklonmühle Twister

Geeignet für: Erbsen, getrocknete Blätter, Gewürze, Kräuter, Mais, Reis, Samen, Tee, Weizen usw.

Der Twister wurde speziell für die Vermahlung von nicht-fettigen Lebens- und Futtermittelproben für die nachfolgende NIR Analytik entwickelt. Die Mühle zerkleinert faserige und weiche Produkte schnell und schonend auf die erforderliche Analysenfeinheit von ca. 0,5 mm. Sie verfügt über einen Rotor sowie einen Mahlring mit Siebeinsatz. Durch die hohe Drehzahl von bis zu 14.000 min⁻¹ und die spezielle Geometrie von Rotor und Mahlraum wird ein Luftstrom erzeugt, der das

zerkleinerte Mahlgut durch den integrierten Zyklon in das Probengefäß überführt. Der Zyklon sorgt für eine zusätzliche Kühlung der Probe und der Mahlwerkzeuge, so dass ein Erhitzen des Mahlgutes und somit Feuchtigkeitsverluste vermieden werden. Somit ist gewährleistet, dass zu bestimmende Probeneigenschaften nicht verändert werden. Das Mahlgut wird im Zyklon abgetrennt und im Probengefäß vollständig aufgefangen. Die Rotorgeschwindigkeit lässt sich dank einer dreistufigen Regelung optimal an das Probenmaterial anpassen.

2.2. Messermühle GRINDOMIX GM 200 und GM 300

Geeignet für: Beeren, Brot, Fertigerichte, frischer Fisch, Frischfleisch, gekochte Eier, Gemüse, Gummibärchen, Hackfleisch, Kartoffeln, Käse, Kekse, Kräuter, Kuchen, Leber, Milchpulver, Müsliriegel, Nuss, Obst, Rosinen, Samen, Salat, Schokolade, Salami, Sojabohnen, Speck, Suppe, Süßigkeiten, Tomaten usw.

Messermühlen werden für die Homogenisierung von Proben mit hohem Fett-, Öl oder Wassergehalt eingesetzt. Die GM 300 nimmt Probenmengen bis 4.500 ml auf und ist damit die einzige Mühle, die eine komplette Pizza oder einen Laib Brot in einem Arbeitsgang zerkleinert. Die flexible Drehzahl der Messermühlen ermöglicht eine Anpassung an die jeweiligen Probeneigenschaften. Im Reversierbetrieb zerkleinert die stumpfe Seite der Messerklinge die Probe durch Prall, während im Standardbetrieb die scharfe Seite das Material zerschneidet. Eine breite Auswahl an Zubehör steht zur Verfügung: unterschiedliche Messer und Deckel, Mahlbehälter aus Polypropylen, Polycarbonat, rostfreiem Stahl und Glas. Alle Becher (Ausnahme Polypropylen) sind autoklavierbar. Für die schwermetallfreie Aufbereitung gibt es Messer aus analysenneutralem Material. Der Schwerkraftdeckel reduziert das Bechervolumen und passt dieses automatisch an die Probenmenge an.

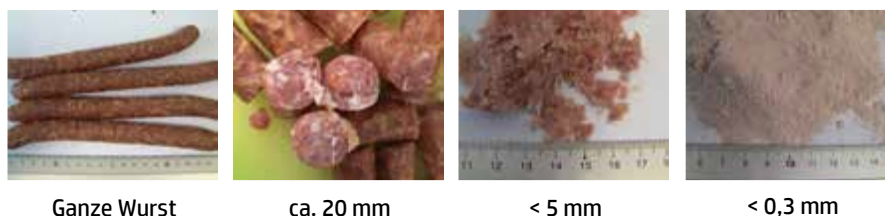


Abb. 3: Homogenisierung von Wurst; von links nach rechts: Ausgangsprobe; vorzerkleinert mit groben Fettpartikeln; vermahlen auf <5 mm; Endfeinheit <300 µm

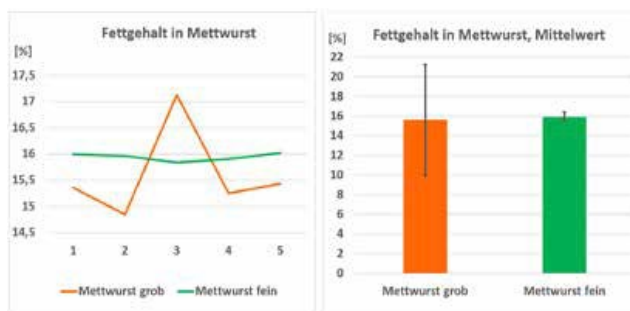


Abb. 4: Links: in den groben Wurstproben variiert der Fettanteil, in den feinvermahlenden ist er konstant; rechts: Mittelwert von je 5 Proben, die Feinzerkleinerung führte zu einer deutlich geringeren Standardabweichung beim Fettgehalt.

2.3. Schwingmühle MM 400 und CryoMill

Geeignet für: Beeren, Eierschalen, Gewürze, Gummibärchen, Kaugummi, Kekse, Kräuter, Laktosepulver, Leber, Olivenpaste, Tabak, Tee, Tiefkühlfisch, Samen, Vanilleschoten, Waffeln, Weizen usw.

Die MM 400 homogenisiert geringe Probenmengen bis 20 ml. Die Mahlbecher führen in horizontaler Lage kreisbogenförmige Schwingungen mit einer maximalen Frequenz von 30 Hz aus. Die Zerkleinerung auf Endfeinheiten bis 5 µm (d_{90}) erfolgt durch Pralleffekte und hängt vom Probenmaterial ab. Die Mahlbecher sind in Größen von 1,5 ml bis 50 ml erhältlich und für die Trocken- und Nassvermahlung geeignet. Verfügbare Werkstoffe für Becher und Mahlkugeln sind u. a. Achat oder Zirkonoxid. Die MM 400 kann mit unterschiedlichen Adaptern bestückt werden, welche z. B. 20 x 2 ml oder 10 x 5 ml Reaktionsgefäße aufnehmen oder auch 8 x 50 ml Zentrifugalröhrchen. Die CryoMill wurde speziell für die Kaltvermahlung entwickelt und wird im Kapitel über die Kryovermahlung näher beschrieben.

2.4. Schneidmühlen SM 100, SM 200, SM 300

Geeignet für: gefriergetrockneter Fisch, Gewürze, Kakaobutter, Kartoffeln, Knochen, Kräuter, Orangenschale, Pilze, Sheanuss, Tee, Wurzeln, Zuckerrohr, Zuckerrübenpellets usw.

Schneidmühlen sind für die Vorzerkleinerung weicher, mittelharter oder faseriger Proben, wie Wurzeln, Nuss-

schalen oder Knochen, geeignet. Je nach Modell ist die Drehzahl der Mühle fix oder variabel bis 3.000 min^{-1} . Die erzielte Endfeinheit wird von der Öffnungsweite des auswechselbaren Bodensiebs bestimmt, welche von 0,25 mm bis 20 mm reicht, und von den Materialeigenschaften der Probe. Drei Rotortypen erlauben die bestmögliche Zerkleinerung je nach Materialart. Durch den Einsatz eines Zyklons wird die Probe schneller aus dem Mahlraum ausgetragen; durch den Luftstrom werden Probe und Mahlwerkzeuge zusätzlich gekühlt.

3. Anwendungsbeispiele: Homogenisierung von Lebensmitteln

3.1. Fettgehalt in Wurst

Wurst enthält häufig grobe Fettpartikel. Darum muss sie gründlich homogenisiert werden, um zuverlässige Analyseergebnisse sicherzustellen. Bei der geringen Menge, die für die Bestimmung des Fettgehalts erforderlich ist, würde eine willkürliche Probenahme zu Ergebnissen mit großen Standardabweichungen führen. 400 g Wurst wurden manuell in Stücke von ca. 20 mm vorzerkleinert und dann in zwei Stufen in der GM 300 vermahlen. Im ersten Schritt wurde die

Probe in nur 25 Sekunden bei 4000 min⁻¹ mit einem Wellenschliffmesser in Stücke <5 mm zerkleinert, wobei der Wellenschliff die Vermahlung des faserigen Fleisches erleichtert. Nach diesem Schritt wurde eine Teilprobe für die Fettanalyse entnommen. Die restliche Probe wurde mit Trockeneis im Verhältnis 1:2 vermischt und in dem Mahlbehälter aus rostfreiem Stahl bei 4000 min⁻¹ für 3 x 20 Sekunden weiter homogenisiert (Abb. 3). Dabei kam ein Vollmetallmesser zum Einsatz.

Sowohl für die grob als auch für die fein zerkleinerte Probe wurde fünf Mal durch mikrowelleninduzierte Trocknung im Smart 6 (CEM GmbH) in Kombination mit NMR Spektroskopie im Oracle Fettanalysator (CEM GmbH) der Fettgehalt bestimmt. Für jede Messung wurden 4 g Probe in 2,5 min getrocknet und in 1 min analysiert. Der Fettgehalt der groben Wurststücke variiert stärker als bei den fein vermahlenden Proben. Er liegt zwischen 14,85 % und 17,12 % mit einer Standardabweichung (SA) von 0,88 %. Bei der homogenisierten Probe ist die Standardabweichung mit 0,07 % deutlich niedriger (Abb. 4), wobei der Fettgehalt von 15,84 % bis 16,02 % reicht (relative Standardabweichung von 5,63 % auf 0,45 % reduziert).

3.2. NIR Analyse von Weizen

NIR (Nahinfrarotspektroskopie) ist eine verbreitete Analysenmethode zur Bestimmung von Eiweiß-, Feuchte, Fett- und Aschegehalt in einem Arbeitsgang. Sie kommt daher häufig zum Einsatz, wenn hoher Probendurchsatz und große Flexibilität gefordert sind. Ein viel diskutierter Punkt ist die Probenvorbereitung und ihre Vorteile für die NIR Analyse. Die Eindringtiefe der NIR Strahlung liegt bei maximal 1 mm, so dass alles darunter nicht mehr detektiert werden kann. Wenn die Probe vollständig homogen ist, stellt dies kein Problem dar; besteht sie jedoch aus mehreren Schichten, wie Getreide oder Samen, werden nur die Schichten bis 1 mm erfasst und sind folglich in den Messergebnissen überrepräsentiert. Dieser Effekt wird bei der NIR Analyse von vermahlenem und un-

Tab. 1: Unterschiedliche Asche- und Rohfasergehalte in vermahlenden und unvermahlenden Proben

	Asche	Feuchte	Rohfaser	Fett	Protein
Vermahlener Weizen					
Mittelwert [%]	2,80	9,68	1,10	1,17	9,02
Standardabweichung [%]	0,03	0,09	0,05	0,03	0,07
Unvermahlener Weizen					
Mittelwert [%]	0,10	9,80	6,90	1,38	8,46
Standardabweichung [%]	0,10	0,25	0,62	0,16	0,45

vermahlenem Weizen deutlich. Die Proben wurden 10 Mal gemessen, das Spektrometer wurde für jede Messung neu befüllt. Die Proben wurden im Twister mit 14.000 min⁻¹ zerkleinert. Die Ergebnisse zeigen eine deutliche Diskrepanz zwischen zerkleinerten und unzerkleinerten Proben, besonders beim Asche- und Rohfasergehalt (Tab. 1). Wie oben erläutert, wird bei dem unvermahlenden Weizen nur die Oberfläche analysiert, was zu einer Überrepräsentierung der Schale führt. Nur durch die Homogenisierung der Probe können aussagekräftige und zuverlässige Messergebnisse sichergestellt werden.

3.3. Detektion von Mykotoxinen in Nüssen

Einige Lebensmittel weisen ein erhöhtes Risiko von Mykotoxin-Freisetzung aufgrund von Pilzbefall auf, besonders bei zu langer und unsachgemäßer Lagerung. Pilzbefall erfolgt üblicherweise in Nestern, so dass eine willkürlich entnommene Probenmenge ausreichend groß sein muss, um die Detektion der Schadstoffe zu ermöglichen. Im ersten Schritt wird eine repräsentative Menge von 1 bis 2 kg pro Tonne Ausgangsprobe, z. B. von Nüssen, in der Schneidmühle SM 300 mit einem 4 mm Bodensieb auf Partikel <3 mm vorzerkleinert. Dabei sollte der 6-Scheiben-Rotor verwendet werden, da die Nusschalen für die anderen Rotoren zu hart sind. Die nachfolgende Feinerzkleinerung lässt sich idealerweise in der Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 durch-



Abb. 5: Homogenisierung von Nüssen; von links nach rechts: Ausgangsprobe; Vorzerkleinerung auf <3 mm; Endfeinheit <300 µm

führen. Bei der Aufbereitung von Haselnüssen sollte der Distanzrotor eingesetzt werden. Da Mykotoxine lipophil sind sollte der Mahlvorgang möglichst schonend ablaufen, um den Austritt von Fett aus der Probe zu verhindern. Eine Feinheit von 300 µm (Abb. 5) ist für die nachfolgende Extraktion der Mykotoxine durch HPLC ausreichend.

3.4. Nachweis von polychloriertem Biphenyl in Fisch

Die Homogenisierung von Fisch ist eine Herausforderung. Schuppen, Haut und Gräten lassen sich nur schwer zerkleinern, so dass nach dem Mahlprozess häufig noch größere Stücke zurückbleiben (z. B. bei Zerkleinerung von frischem Fisch in einer Messermühle). Ein hoher Fettgehalt im Fisch erschwert den Mahlvorgang zusätzlich, da Fettpartikel zusammenkleben und zu einer Blockade der Mühle führen können, so dass die Probe inhomogen bleibt. Wird der Fisch



Abb. 6: Homogenisierung von Fisch; links: Ausgangsprobe; rechts: Endfeinheit <1 mm

gefriergetrocknet und anschließend in der Schneidmühle SM 300 vermahlen, lassen sich diese Probleme umgehen. 125 g Karpfen oder Steinbutt (4 vorge-schnittene Fische) wurden in der SM 300 bei einer Drehzahl von 3.000 min^{-1} mit dem V-Rotor zerkleinert, der auch Schuppen und Gräten bewältigt. Durch den Einsatz eines Zyklons wird die Probe gekühlt. Nach 2 min Mahldauer mit einem 1 mm Bodensieb wies die Fischprobe eine Feinheit von 1 mm auf; dabei kam es zu keiner nennenswerten Erwärmung der Probe (Abb. 6).

3.5. Pyrrolizidinalkaloide in Tee

Die Gruppe der Pyrrolizidinalkaloide umfasst 500 chemische Stoffe, welche vor allem in Korblütlern, Borretschgewächsen und Hülsenfrüchten vorkommen. 25 g getrocknete Kamillenblüten mit einer Partikelgröße von maximal 5 mm wurden mit folgenden Parametern in der ZM 200 vermahlen: Drehzahl 18.000 min^{-1} , 0,2 mm Ringsieb. Nach 2 Minuten war die Probe auf eine Endfeinheit von $<100 \mu\text{m}$ pulverisiert (Abb. 7). Der Einsatz eines Zyklons sorgt für kontinuierlichen Materialaustrag und Kühlung des Mahlgutes. So bleiben die Eigenschaften der wärmeempfindlichen Pyrrolizidinalkaloide erhalten.



Kamille $< 0,1 \text{ mm}$

Abb. 7: Homogenisierung von Kamille; links: Ausgangsprobe; rechts: Endfeinheit $<100 \mu\text{m}$

3.6. Ginsenoide in Ginseng

In der traditionellen chinesischen Medizin ist Ginseng seit langem für seine gesundheitsfördernde Wirkung bekannt, wie die Stärkung der Immunabwehr und des Herz-Kreislauf-Systems. Verschiedene chemische Substanzen, wie die Ginseng Saponine, scheinen für diese positiven Effekte verantwortlich zu sein. Kleine Mengen von Ginsengwurzel lassen sich in der MM 400 zerkleinern, wenn die Partikel kleiner 8 mm sind. Größere Probenstücke müssen vorge-schnitten

werden, z. B. in einer Schneidmühle mit Parallelschnittrotor. 17 ml vorge-schnittene Ginsengwurzel wurden in der MM 400 in einem 50 ml Stahlmahlbecher mit 15 Mahlkugeln à 10 mm Durchmesser pulverisiert. Nach 4 Minuten Mahldauer bei einer Frequenz von 30 Hz wurde eine Endfeinheit von $<100 \mu\text{m}$ erzielt (Abb. 8).



Ginsengwurzel $< 8 \text{ mm}$ $< 0,1 \text{ mm}$

Abb. 8: Homogenisierung von Ginseng; von links nach rechts: Ausgangsprobe; Vorzerkleinerung auf $<8 \text{ mm}$; Endfeinheit $<100 \mu\text{m}$



Steinsalz $< 20 \text{ mm}$ $< 0,2 \text{ mm}$

Abb. 9: Homogenisierung von Steinsalz; von links nach rechts: Ausgangsprobe; Vorzerkleinerung auf $<20 \text{ mm}$; Endfeinheit $<200 \mu\text{m}$

3.7. Vermahlung größerer Mengen Salz

Steinsalz und Meersalz bestehen nicht nur aus Natriumchlorid, sondern können auch andere Mineralien oder Silikate enthalten, je nach Abbauggebiet und -methode. Die Elementkonzentration in Salz ist üblicherweise sehr gering, daher ist es oft notwendig, mehrere Kilogramm aufzubereiten. Prinzipiell könnte eine Schneidmühle solche Mengen gut verarbeiten, aber der Verschleiß wäre deutlich höher als in einer Schlagrotormühle wie der SR 300. Die Schneidleisten der Schneidmühle sind nicht für die Vermahlung von stark abrasivem Material wie Salz ausgelegt. Mit der SR 300 lassen sich Mengen von mehreren Kilogramm problemlos verarbeiten. Zur Reduzierung der Reibungswärme wird ein Distanzrotor eingesetzt. 5 kg Salz mit einer Aufgabegröße von bis zu 10 mm können in einem Arbeitsgang bei 10.000 min^{-1} vermahlen und in einem 5-Liter Behälter aufgefangen werden. Eine Endfeinheit von $<200 \mu\text{m}$ wird für die gesamte Probenmenge in 6 Minuten erreicht (Abb. 9).

3.8. Vitamin C Analyse in Bonbons

Süßigkeiten gibt es in sehr unterschiedlichen Konsistenzen: hart, klebrig, weich oder feucht und dabei oft inhomogen. Für die HPLC Analyse, welche z. B. für die Bestimmung des Vitamin-C-Gehaltes in Bonbons eingesetzt wird, ist eine Partikelgrößenverteilung der Probe zwischen 0,5 mm und 0,75 mm ideal. Ein typischer Homogenisierungsprozess in der Messermühle GRINDOMIX GM 200 von 100 g

Bonbons läuft so ab, dass die Probe zuerst für einige Sekunden im Reversierbetrieb mit der stumpfen Messerseite zerkleinert wird. Danach wird sie für 15 Sekunden im Standardbetrieb mit Intervall bei 4.000 min^{-1} vermahlen. Eine weitere Pulverisierung bis auf eine Feinheit $<0,5 \text{ mm}$ wird bei 6.000 min^{-1} und einer Mahldauer von 6 bis 12 Sekunden erreicht (Abb. 10). Diese schrittweise Vorgehensweise verhindert, dass die Probe aufgrund ihres hohen Zucker- und Stärkesirupgehaltes am Messer kleben bleibt, was bei Haushaltsmixern häufig vorkommt.



Schaumzucker $< 0,5 \text{ mm}$

Abb. 10: Homogenisierung von Schaumzucker; links: Ausgangsprobe; rechts: Endfeinheit $<500 \mu\text{m}$

3.9. Detektion von GVO in Sojabohnen

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird zur Detektion von genetisch veränderten Organismen (GVO) eingesetzt. Vor der Analyse muss die Probe homogenisiert werden. Wichtig ist Sorgfalt bei der Probenahme, um eine repräsentative Teilprobe und damit aussagekräftige Testergebnisse zu erhalten. Aus einer Menge von 20 t Sojabohnen wird eine

Laborprobe von ungefähr 2,5 kg entnommen. Für den Nachweis von GVO wird hiervon eine Analysenprobe von ca. 1000 g im Fall von Mais oder Sojabohnen extrahiert und in der Messermühle GRIN-DOMIX GM 200 vollständig homogenisiert. Für die PCR Analyse werden nur 2 mg Probenmaterial benötigt. Die Homogenisierung gewährleistet, dass diese geringe Menge für die Ausgangsprobe von 20 t repräsentativ ist. Körniges Material wie Sojabohnen wird im Mahlbehälter aus rostfreiem Stahl bei einer Drehzahl von 10.000 min^{-1} aufbereitet. Bei Chargen von $4 \times 250 \text{ g}$ werden Endfeinheiten unter 0,5 mm innerhalb von 30 Sekunden erzielt (Abb. 11).



Sojabohnen

< 0,5 mm

Abb. 11: Homogenisierung von Sojabohnen; links: Ausgangsprobe; rechts: Endfeinheit <500 µm

4. Kryogenvermahlung von Lebensmittelproben

Die meisten Probematerialien lassen sich bei Raumtemperatur auf die benötigte Analysenfeinheit zerkleinern. Es gibt jedoch Grenzen, z. B. wenn sich bereits eine geringe Temperatursteigerung negativ auf die Probe auswirkt; oder bei sehr elastischem Material, welches sich bei Wärme verformt. Für die effektive Homogenisierung von fettigen, klebrigen, halbflüssigen Lebensmitteln (z. B. Käse, Rosinen, Weingummi oder Marzipan) ist eine Kryogenvermahlung notwendig, da diese Proben bei Raumtemperatur nur verklumpen würden. Unter kryogenen Bedingungen wird der Verlust leichtflüchtiger Bestandteile wie Alkohol reduziert und Inhaltsstoffe, z. B. Spuren von Weichmachern, welche durch Plastikverpackungen in das Produkt migrieren, bleiben erhalten. Bei Aufbereitung unter Raumtemperatur würden sich solche Stoffe verflüchtigen. Zudem bewahrt die Kaltvermahlung die ursprünglichen Strukturen von Vitaminen und Proteinen. Als Mahlhilfen werden Flüssig-

stickstoff LN_2 ($-196 \text{ }^\circ\text{C}$) oder Trockeneis (festes CO_2 ; $-78 \text{ }^\circ\text{C}$) eingesetzt, welche die Probe verspröden und dadurch das Bruchverhalten verbessern. In diesem Kapitel werden die besonderen Anforderungen der Kryogenvermahlung erläutert. Grundsätzlich gelten alle Regeln und Empfehlungen für Vermahlungen bei Raumtemperatur auch für kryogene Prozesse.

4.1. Schwingmühle

Der MM 400 Mahlbecher muss vor der Versprödung mit Mahlkugeln und Probe befüllt und fest verschraubt werden. Es ist darauf zu achten, dass kein LN_2 im Mahlbecher eingeschlossen ist, da dessen Verdampfung zu einem beträchtlichen Druckaufbau innerhalb des Mahlbechers führen würde. Der verschlossene Mahlbecher, und damit die Probe, wird im Flüssigstickstoffbad für 2 bis 3 Minuten versprödet. Für die Kryogenvermahlung eignen sich Mahlbecher aus Stahl oder PTFE. Es sollten immer Mahlbecher benutzt werden, die aus nur einem Material gefertigt sind, also in der Regel Stahl oder Teflon. Unterschiedliche Materialien können unterschiedlich auf eine extreme Temperatur von $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ reagieren, was zu Schäden am Becher führen kann. Für die Kryogenvermahlung sind auch 1,5 ml, 2 ml und 5 ml Einweggefäße erhältlich. Aufgrund des hohen Energieeintrags und der daraus resultierenden Reibungswärme sollte die Mahldauer nicht länger als 2 Minuten betragen, um die Probe vor Erwärmung zu schützen und die Brucheigenschaften nicht zu beeinträchtigen. Wenn eine längere Mahldauer erforderlich ist, sollte diese durch Zwischenkühlung des Mahlbechers unterbrochen werden. Die CryoMill bietet den Vorteil einer kontinuierlichen Kühlung des Mahlbechers mit Flüssigstickstoff. Dadurch ist die Temperaturkonstanz bei $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ garantiert, so dass auch bei langer Mahldauer keine Zwischenkühlung erforderlich ist. Zudem kommt der Anwender zu keinem Zeitpunkt in Kontakt mit LN_2 . Die automatische Vorkühlung stellt sicher, dass der Mahlprozess erst beginnt, wenn die Temperatur von $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ erreicht und gehalten wird. Für die schwermetallfreie

Vermahlung in der CryoMill sollte ein Mahlbecher aus Zirkonoxid verwendet werden.

4.2. Ultra-Zentrifugalmühle oder Schneidmühle

Die ZM 200 und die Schneidmühlen sind für größere Probenvolumina konzipiert als die Schwingmühlen. Die Probe wird direkt in einen Behälter mit Flüssigstickstoff getaucht, bevor sie langsam und kontinuierlich in den Trichter aufgegeben wird. Wird Trockeneis als Mahlhilfe eingesetzt, muss dieses mit der Probe im Verhältnis 2:1 gemischt werden, bevor dann die Mischung in der Mühle pulverisiert wird. Für die Kryogenvermahlung in der ZM 200 empfiehlt sich der Einsatz einer Kassette in Kombination mit einem Zyklon, um sicherzustellen, dass das verdampfende Trockeneis während der Vermahlung vollständig ausgetragen wird. Bei einer Partikelgröße von überwiegend $<1 \text{ mm}$ sollte eher Trockeneis als LN_2 eingesetzt werden, weil es einfacher ist, die Proben-Eis-Mischung in die Mühle aufzugeben als die feinen Partikel mit einem Löffel aus dem Flüssigstickstoffbad zu „fischen“. Wenn die Probe über eine geringe Wärmekapazität verfügt, ist Trockeneis ebenfalls die bessere Wahl, da es während der Vermahlung für Kühlung sorgt. Soll die versprödete, und somit harte, Probe in einer Schneidmühle zerkleinert werden, empfiehlt sich der Einsatz des 6-Scheiben-Rotors.

4.3. Messermühlen

Klebrige und zähe Proben, wie z. B. Käse, Rosinen, Weingummi oder Marzipan, lassen sich hervorragend in einer Messermühle homogenisieren. Sogar Schokolade, die bei Raumtemperatur nur zu einer Paste vermahlen wird, lässt sich kryogen erfolgreich zerkleinern. Da Messermühlen nicht für Temperaturen bis $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ ausgelegt sind, ist der Einsatz von Flüssigstickstoff nicht ratsam. Stattdessen sollte die Probe im Verhältnis 1:2 mit Trockeneis gemischt werden; sie ist nach wenigen Minuten durchgekühlt und bereit für die Vermahlung. Das Trockeneis kühlt die Probe während des gesamten Mahlprozesses. Bei der Kaltvermahlung dürfen keine Mahlwerkzeuge aus Plastik eingesetzt werden, da

diese beschädigt werden könnten. Geeignetes Zubehör sind z. B. ein Mahlbehälter aus rostfreiem Stahl, ein Vollmetallmesser sowie ein spezieller Deckel mit Öffnung zur Entweichung des gasförmigen Kohlenstoffdioxids.

Fazit

In diesem Beitrag wurde anhand zahlreicher Beispiele dargestellt, dass die Probenhomogenisierung ein essentieller Schritt in der Qualitätskontrolle von Lebensmitteln ist, da nur vollständig homogene Proben aussagekräftige und

reproduzierbare Analysenergebnisse garantieren. Aufgrund des sehr breiten Angebots an Labormøhlen und Zubehör ist es wichtig, vor der Entscheidung für ein passendes Gerät alle Aspekte der Probenvorbereitung zu berücksichtigen. Nur dann lässt sich dieser wichtige Arbeitsschritt effizient und zuverlässig durchführen. Sowohl die Kenntnis der Probeneigenschaften als auch das Wissen um die verschiedenen Møhlentypen und Zubehörarten ermöglichen eine Probenaufbereitung mit minimalem Aufwand und bestmöglichen Ergebnissen.