

DIN EN ISO 17234-1



ICS 59.140.30

Einsprüche bis 2023-11-15
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 17234-1:2020-12

Entwurf

**Leder –
Chemische Prüfungen zur Bestimmung bestimmter Azofarbstoffe in
gefärbten Ledern –
Teil 1: Bestimmung bestimmter aromatischer Amine aus Azofarbstoffen
(ISO/DIS 17234-1:2023);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 17234-1:2023**

Leather –
Chemical tests for the determination of certain azo colourants in dyed leathers –
Part 1: Determination of certain aromatic amines derived from azo colourants
(ISO/DIS 17234-1:2023);
German and English version prEN ISO 17234-1:2023

Cuir –
Essais chimiques pour le dosage de certains colorants azoïques dans les cuirs teints –
Partie 1: Dosage de certaines amines aromatiques dérivées des colorants azoïques
(ISO/DIS 17234-1:2023);
Version allemande et anglaise prEN ISO 17234-1:2023

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-09-15 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nmp@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 67 Seiten

DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 17234-1:2023) wurde vom Technischen Komitee IULTCS „International Union of Leather Technologists and Chemists Societies“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 289 „Leder“ erarbeitet, dessen Sekretariat von UNI (Italien) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 062-05-52 AA „Chemische Prüfverfahren für Leder“ im DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

DIN EN ISO 17234 besteht unter dem allgemeinen Titel *Leder — Chemische Prüfungen zur Bestimmung bestimmter Azofarbstoffe in gefärbten Ledern* aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Bestimmung bestimmter aromatischer Amine aus Azofarbstoffen*
- Teil 2: *Bestimmung von 4-Aminoazobenzol*

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 2418	siehe	DIN EN ISO 2418
ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 4044	siehe	DIN EN ISO 4044
ISO 14362-1	siehe	DIN EN ISO 14362-1
ISO 17234-2	siehe	DIN EN ISO 17234-2

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 17234-1:2020-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die beiden neuen normativen Anhänge Anhang E und Anhang F hinzugefügt;
- b) Dokument redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 2418, *Leder — Chemische, physikalische und mechanische Prüfungen und Echtheitsprüfungen — Position und Vorbereitung der Proben für die Prüfung*

DIN EN ISO 4044, *Leder — Chemische Prüfungen — Vorbereitung von Proben für chemische Untersuchungen*

DIN EN ISO 14362-1, *Textilien — Verfahren für die Bestimmung bestimmter aromatischer Amine aus Azofarbstoffen — Teil 1: Nachweis der Verwendung bestimmter Azofarbstoffe mit und ohne Extraktion der Fasern*

DIN EN ISO 17234-2, *Leder — Chemische Prüfungen zur Bestimmung bestimmter Azofarbstoffe in gefärbten Ledern — Teil 2: Bestimmung von 4-Aminoazobenzol*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

– *Entwurf* –

E DIN EN ISO 17234-1:2023-10

– Leerseite –

Leder – Chemische Prüfungen zur Bestimmung bestimmter Azofarbstoffe in gefärbten Ledern – Teil 1: Bestimmung bestimmter aromatischer Amine aus Azofarbstoffen (ISO/DIS 17234-1:2023)

Leather – Chemical tests for the determination of certain azo colourants in dyed leathers – Part 1: Determination of certain aromatic amines derived from azo colourants (ISO/DIS 17234-1:2023)

Cuir – Essais chimiques pour le dosage de certains colorants azoïques dans les cuirs teints – Partie 1: Dosage de certaines amines aromatiques dérivées des colorants azoïques (ISO/DIS 17234-1:2023)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Allgemeines	6
5 Kurzbeschreibung	8
6 Sicherheitsvorkehrungen	8
7 Prüfeinrichtung	8
8 Reagenzien	9
9 Probenahme und Probenvorbereitung	10
10 Durchführung	10
10.1 Entfettung	10
10.2 Reduktive Spaltung	10
10.3 Flüssig-Flüssig-Extraktion	10
10.4 Kontrolle des analytischen Systems	11
11 Chromatographische Untersuchungen	11
12 Kalibrierung	11
13 Auswertung	12
13.1 Berechnung des Amingehaltes in der Probe	12
13.2 Zuverlässigkeit des Verfahrens	12
14 Prüfbericht	12
Anhang A (informativ) Chromatographische Untersuchungen	14
A.1 Vorbemerkungen	14
A.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	14
A.2.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie/Diodenarray-Detektor (HPLC-DAD)	14
A.2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie/massenselektiver Detektor (HPLC-MS)	15
A.3 Kapillargaschromatographie (GC-MS)	16
A.4 Kapillarelektrophorese (CE-DAD)	16
A.5 Dünnschichtchromatographie (TLC); HPTLC oder TLC nur zur semiquantitativen Bestätigung	16
A.5.1 Allgemeines	16
A.5.2 Derivatisierungsverfahren	17
Anhang B (informativ) Zuverlässigkeit des Verfahrens	18
Anhang C (informativ) Bewertungsleitfaden — Interpretation der Untersuchungsergebnisse	19
C.1 Allgemeines	19
C.1.1 Allgemeines	19
C.1.2 Bestimmung von 4-Aminoazobenzol	19
C.1.3 Falsch positive Ergebnisse	19
C.1.4 Bei Gehalten je Aminkomponente ≤ 30 mg/kg	25
C.1.5 Bei Gehalten je Aminkomponente > 30 mg/kg	25
C.2 Anleitungen für Verfahren und Erklärungen, wenn falsch positive Ergebnisse oder aromatische Amine durch andere Quellen als Azofarbstoffe möglich sind	25
C.2.1 Falsch positive Ergebnisse durch chromatographische Ungenauigkeit	25
C.2.2 Falsch positive Ergebnisse durch andere Quellen als Azofarbstoffe	25
Anhang D (informativ) Verfahren zur Flüssig-Flüssig-Extraktion ohne Kieselgur	27
D.1 Vorbemerkungen	27
D.2 Zusätzlich verwendete Chemikalien	27
D.3 Zusätzlich verwendete Geräte	28
D.4 Durchführung	28
D.4.1 Probenvorbereitung	28

D.4.2	Entfettung	28
D.4.3	Reduktive Spaltung	28
D.4.4	Trennung und Aufkonzentrierung der Amine	28
D.4.5	Nachweis und quantitative Bestimmung von Aminen	29
D.4.6	Überprüfung des Verfahrens	29
Anhang E (normativ) Farbstoffe — Verfahren zur Bestimmung bestimmter aromatischer Amine .		30
E.1	Anwendungsbereich	30
E.2	Kurzbeschreibung	30
E.3	Probenvorbereitung	30
E.3.1	Allgemeines	30
E.3.2	Probenmenge	30
E.4	Durchführung	30
E.5	Auswertung	30
E.6	Prüfbericht	30
Anhang F (normativ) Leder und Farbstoffe — Verfahren zur Bestimmung freier aromatischer Amine		31
F.1	Anwendungsbereich	31
F.2	Kurzbeschreibung	31
F.3	Zusätzlich verwendete Chemikalien	31
F.4	Durchführung	31
F.4.1	Probenvorbereitung	31
F.4.2	Entfettung	31
F.4.3	Extraktion	32
F.4.4	Trennung und Aufkonzentrierung von Anilin	32
F.5	Chromatographische Untersuchungen	32
F.6	Kalibrierung	32
F.7	Auswertung	33
F.8	Prüfbericht	33
Literaturhinweise		34

Bilder

Bild A.1 — HPLC-DAD-Chromatogramm	15
---	----

Tabellen

Tabelle 1 — In der EU-Verordnung 1907/2006, Anhang XVII, Anlage 8 [2] und GB 20400-2006 [3] aufgeführte aromatische Amine	6
Tabelle A.1 — Gradientenprogramm	15
Tabelle B.1 — Ringversuch — Präzisionsdaten	18
Tabelle C.1 — Auflistung von möglichen Ursachen für falsch positive Ergebnisse	20

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 17234-1:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/IULTCS „International Union of Leather Technologists and Chemists Societies“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 289 „Leder“ erarbeitet, dessen Sekretariat von UNI gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 17234-1:2020 ersetzen.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 17234-1:2023 wurde von CEN als prEN ISO 17234-1:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde von der Kommission für chemische Prüfungen der „International Union of Leather Technologists and Chemists Societies“ (IUC Commission, IULTCS) in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 289 „Leder“, dessen Sekretariat von UNI gehalten wird, gemäß der Vereinbarung über technische Kooperation zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet. Dieses Verfahren ist dem Verfahren IUC 20, die bei der IULTCS-Delegiertenversammlung am 31. Mai 2003 in Cancun, Mexiko, zu einem amtlichen Verfahren erklärt wurde, technisch ähnlich.

IULTCS wurde 1897 gegründet und ist eine weltweite Organisation professioneller Ledergesellschaften zur Weiterentwicklung der Lederwissenschaft und technologie. IULTCS hat drei Kommissionen, die für die Festlegung von international angewandten Verfahren für die Probenahme und Prüfung von Leder verantwortlich sind. ISO erkennt IULTCS als internationale Normungsorganisation für die Erstellung von Prüfverfahren für Leder an.

Diese vierte Ausgabe ersetzt die dritte Ausgabe (ISO 17234-1:2020), die technisch überarbeitet wurde.

Die Änderungen gegenüber der Vorgängerausgabe sind folgende:

— zwei neue normative Anhänge, Anhang E und Anhang F wurden hinzugefügt.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 17234 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Bestimmung der Verwendung bestimmter Azofarbstoffe fest, die bestimmte aromatische Amine freisetzen können.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 2418, *Leather — Chemical, physical and mechanical and fastness tests — Sampling location*

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 4044, *Leather — Chemical tests — Preparation of chemical test samples*

ISO 17234-2, *Leather — Chemical tests for the determination of certain azo colorants in dyed leathers — Part 2: Determination of 4-aminoazobenzene*

3 Begriffe

In diesem Dokument werden keine Begriffe aufgeführt.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org>

4 Allgemeines

Bestimmte Azofarbstoffe können durch reduktive Spaltung von Azogruppen ein oder mehrere der in der EU-Verordnung 1907/2006, Anhang XVII, Anlage 8 [2] und GB 20400-2006 [3] aufgeführten aromatischen Amine (siehe Tabelle 1) freisetzen.

Tabelle 1 — In der EU-Verordnung 1907/2006, Anhang XVII, Anlage 8 [2] und GB 20400-2006 [3] aufgeführte aromatische Amine

Nr.	CAS-Nummer	Index-Nummer	EG-Nummer	Stoffe
1	92-67-1	612-072-00-6	202-177-1	Biphenyl-4-ylamin 4-Aminobiphenyl Xenylamin
2	92-87-5	612-042-00-2	202-199-1	Benzidin
3	95-69-2	612-196-00-0	202-441-6	4-Chlor- <i>o</i> -toluidin
4	91-59-8	612-022-00-3	202-080-4	2-Naphthylamin
5 ^a	97-56-3	611-006-00-3	202-591-2	<i>o</i> -Aminoazotoluol 4-Amino-2',3-dimethylazobenzol 4- <i>o</i> -Tolylazo- <i>o</i> -toluidin

Tabelle 1 (fortgesetzt)

Nr.	CAS-Nummer	Index-Nummer	EG-Nummer	Stoffe
6 ^a	99-55-8	612-210-00-5	202-765-8	5-Nitro- <i>o</i> -toluidin 2-Amino-4-nitrotoluol
7	106-47-8	612-137-00-9	203-401-0	4-Chloroanilin
8	615-05-4	612-200-00-0	210-406-1	4-Methoxy- <i>m</i> -phenylendiamin 2,4-Diaminoanisol
9	101-77-9	612-051-00-1	202-974-4	4,4'-Methylenedianilin 4,4'-Diaminodiphenylmethan
10	91-94-1	612-068-00-4	202-109-0	3,3'-Dichlorobenzidin 3,3'-Dichlorobiphenyl-4,4'-ylenediamin
11	119-90-4	612-036-00-X	204-355-4	3,3'-Dimethoxybenzidin <i>o</i> -Dianisidin
12	119-93-7	612-041-00-7	204-358-0	3,3'-Dimethylbenzidin 4,4'-Bi- <i>o</i> -toluidin
13	838-88-0	612-085-00-7	212-658-8	4,4'-Methylendi- <i>o</i> -toluidin
14	120-71-8	612-209-00-X	204-419-1	6-Methoxy- <i>m</i> -toluidin <i>p</i> -Cresidin
15	101-14-4	612-078-00-9	202-918-9	4,4'-Methylen-bis-(2-chloranilin) 2,2'-Dichlor-4,4'-methyldianilin
16	101-80-4	612-199-00-7	202-977-0	4,4'-Oxydianilin
17	139-65-1	612-198-00-1	205-370-9	4,4'-Thiodianilin
18	95-53-4	612-091-00-X	202-429-0	<i>o</i> -Toluidin 2-Aminotoluol
19	95-80-7	612-099-00-3	202-453-1	4-Methyl- <i>m</i> -phenylenediamin 2,4-Toluylendiamin 2,4-Diaminotoluol
20	137-17-7	612-197-00-6	205-282-0	2,4,5-Trimethylanilin
21	90-04-0	612-035-00-4	201-963-1	<i>o</i> -Anisidin 2-Methoxyanilin
22 ^b	60-09-3	611-008-00-4	200-453-6	4-Aminoazobenzol
23 ^c	95-68-1	612-027-00-0	202-440-0	2,4-Xylidin 1-Amino-2,4-dimethylbenzol
24 ^c	87-62-7	612-161-00-X	201-758-7	2,6-Xylidin 1-Amino-2,6-dimethylbenzol

- ^a Die CAS-Nummern 97-56-3 (Nr. 5) und 99-55-8 (Nr. 6) werden weiter reduziert zu den CAS-Nummern 95-53-4 (Nr. 18) und 95-80-7 (Nr. 19).
- ^b Azofarbstoffe, die 4-Aminoazobenzol bilden können, erzeugen unter der Bedingung dieses Verfahrens Anilin (CAS-Nummer 62-53-3) und 1,4-Phenylendiamin (CAS-Nummer 106-50-3). Das Vorhandensein dieser Farbstoffe muss unter Verwendung von ISO 17234-2 geprüft werden.
- ^c Zusätzliche aromatische Amine in GB 20400-2006.

5 Kurzbeschreibung

Die Lederprobe wird nach dem Entfetten bei 70 °C in einem geschlossenen System mit Natriumdithionit in einer wässrigen Pufferlösung (pH-Wert 6) behandelt. Die bei der reduktiven Spaltung freigesetzten Amine werden mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion unter Anwendung von Kieselgursäulen in eine *tert*-Butylmethylether-Phase (8.5) überführt. Der *tert*-Butylmethylether-Extrakt (8.5) wird anschließend unter milden Bedingungen im Vakuum am Rotationsverdampfer aufkonzentriert und der Rückstand wird in Abhängigkeit von dem zum Nachweis der Amine angewendeten Verfahren (siehe Anhang A) in einem geeigneten Lösemittel gelöst.

Der Nachweis der Amine erfolgt durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC, en: high-performance liquid chromatography) mit Diodenarraydetektor (DAD, en: diode array detector) oder massenselektivem Detektor (HPLC-MS), Kapillargaschromatographie mit einem massenselektiven Detektor (GC-MS) oder durch Kapillarelektrophorese mit einem Diodenarraydetektor (CE-DAD, en: capillary electrophoresis) oder qualitativ mit Dünnschichtchromatographie (TLC, en: thin layer chromatography, HPTLC, en: high performance thin layer chromatography).

Die Identifikation der Amine muss durch mindestens zwei verschiedene chromatographische Trennverfahren erfolgen, um mögliche Fehlinterpretationen durch Störsubstanzen (wie Stellungsisomere der zu identifizierenden Amine) und somit Falschaussagen zu vermeiden. Die quantitative Bestimmung der Amine muss durch HPLC-DAD oder GC-MS erfolgen.

Ein Screeningverfahren unter Anwendung der Flüssig-Flüssig-Extraktion ohne Kieselgursäulen ist in Anhang D beschrieben.

Ist es erforderlich, den Farbstoff selbst zu analysieren, muss das Verfahren in Anhang E angewendet werden.

Ist eine Analyse auf Rückstände freier aromatischer Amine im Leder oder Farbstoff erforderlich, muss das Verfahren in Anhang F angewendet werden.

6 Sicherheitsvorkehrungen

WARNUNG — Die in Abschnitt 4 aufgeführten aromatischen Amine sind als Stoffe mit bekannter oder vermuteter karzinogener Wirkung auf den Menschen klassifiziert.

6.1 Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, bei diesem Prüfverfahren sichere und geeignete Techniken der Handhabung von Materialien anzuwenden. Bezüglich spezifischer Einzelheiten wie Datenblätter zur Materialsicherheit und zu sonstigen Empfehlungen müssen die Hersteller konsultiert werden.

6.2 Die gute Laborpraxis sollte eingehalten werden. In allen Laborbereichen müssen während des Umgangs mit pulverförmigen Farbstoffen und aromatischen Aminen eine Schutzbrille, eine Staubschutzmaske und Einmalhandschuhe getragen werden.

6.3 Nationale und örtliche Sicherheitsvorschriften können gelten.

7 Prüfeinrichtung

Die üblichen Laborgeräte, insbesondere folgende Geräte.

7.1 Geeignetes Reaktionsgefäß, aus temperaturbeständigem Glas mit gasdichtem Verschluss.

7.2 Geeignetes Heizsystem, bei (70 ± 2) °C.

7.3 Säule aus Polypropylen oder **Glas**, 25 mm bis 30 mm Innendurchmesser, 130 mm bis 150 mm Länge, gepackt mit 20 g Kieselgur, versehen mit Glasfaserfilter am Auslass.

Die Kieselgursäulen werden entweder als vorgepackte Säulen gekauft und so verwendet, oder es können 20 g Kieselgur als Packung in eine Glas- oder Polypropylensäule der angegebenen Maße eingefüllt werden.

7.4 Vakuum-Rotationsverdampfer mit Vakuumregler und Wasserbad.

7.5 Pipetten in den erforderlichen Größen oder variable Pipetten.

7.6 Ultraschallbad mit Thermostat.

7.7 Chromatographische Ausrüstung, ausgewählt aus Folgendem:

7.7.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) und DAD oder MS.

7.7.2 Kapillargaschromatographie (GC) mit MS.

7.7.3 Kapillarelektrophorese (CE) mit DAD.

7.7.4 Dünnschichtchromatographie (TLC) oder Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC).

ANMERKUNG Eine Beschreibung der chromatographischen Ausrüstung (7.7) ist in Anhang A angegeben.

8 Reagenzien

Wenn nicht anders festgelegt, müssen analysenreine Chemikalien verwendet werden.

8.1 *n*-Hexan.

8.2 Citrat-Pufferlösung, 0,06 mol/l, pH-Wert = 6, auf (70 ± 2) °C vorgewärmt.

8.3 Wässrige Natriumdithionitlösung, $\rho = 200$ mg/ml¹, frisch angesetzt zur umgehenden Verwendung, nach einer Ruhezeit von 1 h in einem geschlossenen Gefäß.

8.4 Wässrige Natriumhydroxidlösung, mit einem Massenanteil von 40 %.

8.5 *tert*-Butylmethylether.

8.6 Methanol.

8.7 Acetonitril.

8.8 Amine, in Tabelle 1 gelistet (höchste erhältliche Reinheitsstufe).

8.9 Standardlösungen.

8.9.1 Stammlösung der Amine (8.8), 400 µg/ml in Ethylacetat für TLC.

8.9.2 Stammlösung der Amine (8.8), 200 µg/ml von jedem Amin in einem geeigneten Lösemittel.

ANMERKUNG Acetonitril ist ein geeignetes Lösemittel für diese Stammlösung, das eine gute Stabilität der Amine zur Folge hat.

8.9.3 Standardlösung der Amine zur Verfahrenskontrolle, 30 µg Amin je Milliliter Lösemittel, in Abhängigkeit vom analytischen Verfahren frisch hergestellt aus Stammlösungen (8.9.1 oder 8.9.2).

1 ρ = Massenkonzentration.

8.9.4 Interner Standard in Lösung (IS), $\rho = 10 \mu\text{g IS/ml tert-Butylmethylether}$ (8.5).

Zur GC-MS Analyse kann einer der folgenden internen Standards verwendet werden:

- IS1: Naphthalin-d8, CAS-Nr.: 1146-65-2;
- IS2: 2,4,5-Trichloranilin (TCA), CAS-Nr.: 636-30-6;
- IS3: Anthracen-d10, CAS-Nr.: 1719-06-8.

8.10 Wasser, Qualität 3 nach ISO 3696.

9 Probenahme und Probenvorbereitung

Das Leder muss nach ISO 2418 entnommen und nach ISO 4044 vorbereitet werden. Wenn die Probenahme nach ISO 2418 nicht möglich ist (z. B. bei Ledern aus Fertigerzeugnissen, wie z. B. Schuhen oder Bekleidung), müssen Einzelheiten der Probenahme im Prüfbericht angegeben werden. Alle Spuren von Klebstoff müssen mechanisch entfernt werden.

Bei Patchworkflächengebilden aus Leder mit bunten Mustern müssen die verschiedenen Farben so weit wie möglich getrennt berücksichtigt werden. Bei Waren, die aus verschiedenen Lederqualitäten bestehen, müssen Messproben der verschiedenen Qualitäten separat untersucht werden.

Für das analytische Verfahren muss eine repräsentative Probe von 1,0 g dieser Lederprobe in das Reaktionsgefäß (7.1) eingewogen werden.

10 Durchführung

10.1 Entfettung

1,0 g des Leders muss 40 min in einem geschlossenen 50-ml-Gefäß (7.1) mit 40 ml *n*-Hexan (8.1) im Ultraschallbad (7.6) bei $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ behandelt werden.

Die *n*-Hexanphase muss von der Lederprobe dekantiert werden. Jeder Verlust von Lederpartikeln während des Dekantierens muss vermieden werden. Der *n*-Hexan-Rückstand muss mindestens über Nacht im offenen Gefäß abgelüftet werden.

10.2 Reduktive Spaltung

Eine Menge von 15 ml der auf $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$ vorgewärmten Pufferlösung (8.9) muss zur Probe gegeben werden.

Das Reaktionsgefäß muss dicht verschlossen und (30 ± 1) min bei $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$ behandelt werden.

Anschließend müssen zur reduktiven Spaltung der Azogruppen 3 ml wässrige Natriumdithionitlösung (8.3) in das Reaktionsgefäß gegeben werden, dann muss dieses kräftig geschüttelt und unmittelbar für weitere (30 ± 1) min bei $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$ gehalten werden. Danach muss innerhalb von 2 min in einem Kühlgemisch aus Eis, Wasser und Salz auf Raumtemperatur (20°C bis 25°C) abgekühlt werden.

10.3 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Der Reaktionslösung müssen 1,5 ml der NaOH-Lösung (8.4) zugesetzt werden und dann muss kräftig geschüttelt werden. Die Reaktionslösung muss in die Kieselgursäule (7.3) überführt und zum Absorbieren für 15 min in der Säule belassen werden.

Währenddessen müssen 10 ml *tert*-Butylmethylether (8.5) in das Reaktionsgefäß gegeben werden und dann muss kräftig geschüttelt werden. Nach 15 min muss der *tert*-Butylmethylether (8.5) auf die Säule dekantiert und das Eluat muss in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen werden.

Das Reaktionsgefäß muss mit 10 ml *tert*-Butylmethylether (8.5) gespült und das Lösemittel muss auf die Säule überführt werden. Anschließend müssen 60 ml *tert*-Butylmethylether (8.5) direkt auf die Säule gegeben werden.

Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Aminen muss der *tert*-Butylmethyletherextrakt mit einem Vakuum-Rotationsverdampfer bei einer Temperatur von weniger als 50 °C und einem Druck von etwa 450 mbar auf ein Volumen von weniger als 5 ml (nicht bis zur Trockne) eingengt werden. Falls es notwendig ist, muss zu einem anderen Lösemittel gewechselt werden, das restliche Lösemittel muss mit Hilfe eines schwachen Inertgasstroms vorsichtig entfernt werden.

ANMERKUNG 1 Das Entfernen des Lösemittels (Aufkonzentrieren im Vakuum-Rotationsverdampfer, Eindampfen bis zur Trockne) kann bei Durchführung unter unkontrollierten Bedingungen zu erheblichen Aminverlusten führen.

Der Extrakt oder Rückstand muss ohne Verzögerung mit einem geeigneten Lösemittel für den Nachweis und die Bestimmung der Amine mittels Chromatographie [Acetonitril (8.7), *tert*-Butylmethylether (8.5) oder Methanol (8.6)] auf 2,0 ml aufgefüllt werden. Falls die vollständige Analyse nicht innerhalb von (24 ± 1) h durchgeführt werden kann, muss der Extrakt bei (-18 ± 3) °C aufbewahrt und vor der Analyse vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmt werden.

ANMERKUNG 2 Matrixbedingt können einige Amine wie 2,4-Diaminotoluol und 2,4-Diaminoanisol eine sehr geringe Stabilität zeigen, insbesondere in Methanol. Bei auftretenden Verzögerungen im Arbeitsablauf kann es vorkommen, dass einige Amine zum Zeitpunkt der instrumentellen Messung nicht mehr nachweisbar sind.

10.4 Kontrolle des analytischen Systems

Zur Überprüfung des Analysenverfahrens muss eine bestimmte Menge an Aminen hinzugefügt werden, um x mg/l als Endkonzentration in einem Reaktionsgefäß zu erhalten, das 15 ml Pufferlösung (8.9) enthält.

Anschließend muss das in 10.3 dargelegte Verfahren durchgeführt werden.

Die Wiederfindungsraten für die Amine müssen den folgenden Mindestanforderungen entsprechen:

- Amine Nr. 1 bis 4, 7, 9 bis 17 und 20 bis 21: Wiederfindungsrate 70 %;
- Amin Nr. 8: Wiederfindungsrate 20 %;
- Amine Nr. 18, 19, 23 und 24: Wiederfindungsrate 50 %;
- Amine Nr. 5, 6 und 22: siehe Fußnoten zu Tabelle 1.

11 Chromatographische Untersuchungen

Der Nachweis der aromatischen Amine kann mit den in 7.7 angeführten chromatographischen Verfahren und den in Anhang A beschriebenen Beispielen durchgeführt werden. Andere validierte Verfahren können angewendet werden. Die quantitative Bestimmung der aromatischen Amine erfolgt mittels HPLC-DAD, HPLC-MS oder GC-MS. Wenn die Gaschromatographie zum Einsatz kommt, müssen die in 8.9.4 beschriebenen geeigneten internen Standards verwendet werden.

Wird ein Amin mit einem chromatographischen Verfahren nachgewiesen, muss eine Bestätigung mittels eines oder mehrerer alternativer Verfahren erfolgen. Das Ergebnis ist nur dann positiv, wenn beide Verfahren zu einem positiven Ergebnis kommen.

12 Kalibrierung

Die Standardlösung (8.9.2) muss zur Herstellung von mindestens drei Kalibrierlösungen im Bereich von 2 µg/ml bis 30 µg/ml verwendet werden.

13 Auswertung

13.1 Berechnung des Amingehaltes in der Probe

Die Berechnung des Amingehaltes muss über die Peakflächen der Amin-Einzelkomponenten erfolgen. Der Amingehalt muss als Massenanteil w in Milligramm der Einzelkomponente je Kilogramm (mg/kg) des Ledermaterials nach Gleichung (1) berechnet werden:

$$w = \rho_c \times \frac{A_s \times V}{A_c \times m_E} \quad (1)$$

Dabei ist

- ρ_c die Konzentration des Amins in der Kalibrierlösung, in Mikrogramm je Milliliter ($\mu\text{g/ml}$);
- A_s die Peakfläche des Amins in der Probenlösung, in Flächeneinheiten;
- A_c die Peakfläche des Amins in der Kalibrierlösung, in Flächeneinheiten;
- V das Volumen der Messprobe nach 10.3 (Endvolumen der Probe), in Milliliter (ml) (hier 2 ml);
- m_E die Masse der Lederprobe, in Gramm (g).

13.2 Zuverlässigkeit des Verfahrens

Zur Zuverlässigkeit des Verfahrens siehe Anhang B.

14 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss auf dieses offizielle Verfahren verweisen und Angaben zu mindestens folgenden Aspekten enthalten:

- a) eine Verweisung auf dieses Dokument, d. h. ISO 17234-1:2023;
- b) Identifizierung der Probe;
- c) Probenahmeverfahren;
- d) alle Abweichungen vom analytischen Verfahren, besonders alle durchgeführten zusätzlichen Schritte;
- e) Angabe der zum Nachweis und zur Bestätigung angewendeten Analysetechniken;
- f) das Datum der Prüfung;
- g) die analytischen Ergebnisse in Milligramm je Kilogramm (siehe Abschnitt 13) für die Amine, einzeln aufgelistet und nach den Nachweisschwellenwerten wie folgt wiedergegeben:

Bei Gehalten je Aminkomponente $\leq 30 \text{ mg/kg}$:

Nach den durchgeführten Untersuchungen wurden keine Azofarbstoffe nachgewiesen, die die aufgelisteten aromatischen Amine freisetzen.

Bei Gehalten je Aminkomponente $> 30 \text{ mg/kg}$:

Entsprechend des analytischen Befunds wird davon ausgegangen, dass das vorgelegte Leder unter Verwendung von Azofarbstoffen hergestellt oder behandelt wurde, die eines oder mehrere der aufgelisteten Amine freisetzen.

Bei Gehalten für 4-Aminodiphenyl und/oder 2-Naphthylamin > 30 mg/kg:

Die Anwendung dieses analytischen Verfahrens hat 4-Aminodiphenyl und/oder 2-Naphthylamin nachgewiesen. Nach dem heutigen Wissensstand kann ohne weitere Angaben nicht eindeutig bestätigt werden, dass Azofarbstoffe verwendet wurden, die Amine freisetzen.

Bei der Interpretation von geringeren Amingehalten als 30 mg/kg ist Vorsicht geboten, da diese auf falsch positive Ergebnisse zurückgeführt werden können. Zur Interpretation von Ergebnissen siehe Anhang C.

Anhang A (informativ)

Chromatographische Untersuchungen

A.1 Vorbemerkungen

Aufgrund einer möglichen unterschiedlichen chromatographischen Ausrüstung (7.7) der Laboratorien können keine allgemeingültigen Anweisungen für die chromatographischen Untersuchungen gegeben werden. Die folgenden Kenngrößen wurden erfolgreich geprüft und verwendet.

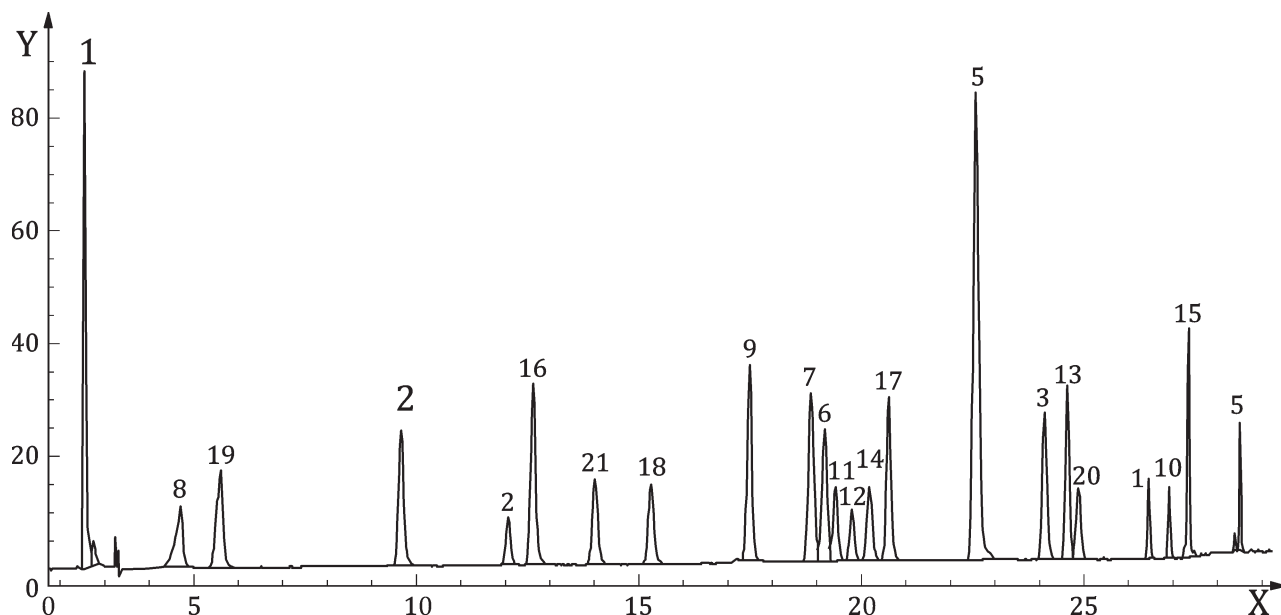
A.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

A.2.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie/Diodenarray-Detektor (HPLC-DAD)

Eluent 1:	Methanol;
Eluent 2:	0,575 g Ammoniumdihydrogenphosphat + 0,7 g Dinatriumhydrogenphosphat in 1 000 ml Wasser, pH-Wert 6,9;
Stationäre Phase:	LiChrospher 60 RP-select B (5 µm), Länge: 250 mm × Innendurchmesser: 4,6 mm;
Volumendurchfluss:	0,7 ml/min bis 1,0 ml/min;
Gradient:	Start 15 % Eluent 1, innerhalb von 45 min linearer Anstieg auf 80 % Eluent 1;
Säulentemperatur:	40 °C;
Injektionsvolumen:	10,0 µl;
Detektion:	DAD, Spektrograph;
Quantifizierung:	bei 240 nm, 280 nm und 305 nm.

ANMERKUNG LiChrospher 60 RP-select B ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produkts durch ISO. Gleichwertige Produkte können verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu den gleichen Ergebnissen führen.

Siehe Beispiel für ein Chromatogramm in Bild A.1.



Legende

X Zeit, in min

Y Extinktion bei 240 nm, in mAU

1 1,4-Phenylendiamin

2 Anilin

ANMERKUNG Aromatische Amine 1 bis 21 siehe Tabelle 1 (aromatische Amine 23 und 24 sind nicht dargestellt).

Bild A.1 — HPLC-DAD-Chromatogramm

A.2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie/massenselektiver Detektor (HPLC-MS)

Eluent 1: Acetonitril;

Eluent 2: Ammoniumacetat in 1 000 ml Wasser, 5 mmol, pH-Wert 3,0;

Stationäre Phase: C18 (3,5 µm), Länge: 50 mm, Innendurchmesser: 2,1 mm;

Volumendurchfluss: 300 µl/min;

Gradient: siehe Tabelle A.1;

Säulentemperatur: 40 °C;

Injektionsvolumen: 2,0 µl;

Detektion: Quadrupol- und/oder Ionenfallen-Massendetektor, Scanmodus und/oder MS-Tochterion MS-Detektion; DAD: für Wellenlängen, siehe A.2.1;

Zerstäubergas: Stickstoff (Flasche/Generator);

Ionisation: API Elektrospray positiv, Fragmentor 120 V.

Tabelle A.1 — Gradientenprogramm

Zeit min	Eluent 1 %	Eluent 2 %
0	10	90
1,5	20	80
7,5	90	10

A.3 Kapillargaschromatographie (GC-MS)

Kapillarsäule:	mittlere Polarität, z. B. SE 54 oder DB 5, Länge: 50 m, Innendurchmesser: 0,32 mm, Filmdicke: 0,5 µm;
Injektionssystem:	split/splitless;
Injektionstemperatur:	250 °C;
Trägergas:	Helium;
Temperaturprogramm:	70 °C (2 min), 70 °C bis 280 °C (bei 10 °C/min), 280 °C (5 min);
Injektionsvolumen:	1,0 µl, splitless 2 min;
Detektion:	MS, scan 45 amu bis 300 amu.

A.4 Kapillarelektrophorese (CE-DAD)

250 µl der Probenlösung (10.3) werden mit 50 µl HCl ($c = 0,01$ mol/l) vermischt und durch ein Membranfilter (0,2 µm) gegeben. Diese Lösung wird mittels Kapillarzonenoelektrophorese untersucht.

Kapillare 1:	56 cm, unbelegt, Innendurchmesser 50 µm, mit erweitertem Strahlengang;
Kapillare 2:	56 cm, mit Polyvinylalkohol-Belegung (PVA), Innendurchmesser 50 µm, mit erweitertem Strahlengang;
Pufferlösung:	Phosphat-Pufferlösung ($c = 50$ mmol/l), pH-Wert 2,5;
Säulentemperatur:	25 °C;
Spannung:	30 kV;
Injektionszeit:	4 s;
Einspülzeit:	5 s;
Detektion:	DAD-Spektrograph bei 214 nm, 240 nm, 280 nm, 305 nm.

A.5 Dünnschichtchromatographie (TLC); HPTLC oder TLC nur zur semiquantitativen Bestätigung

A.5.1 Allgemeines

Platten (HPTLC):	Kieselgel 60 mit Fluoreszenzindikator F254, 20 cm × 10 cm;
Auftragsmenge:	5 µl, strichförmig mit automatischem Applikator;
Fließmittel 1:	Chloroform/Essigsäure (90 + 10) Volumenteile.
Platten (TLC):	Kieselgel 60, 20 cm × 10 cm, Kammersättigung;
Auftragsmenge:	10,0 µl, punktförmig mit automatischem Applikator;
Fließmittel 2:	Chloroform/Ethylacetat/Essigsäure (60 + 30 + 10) Volumenteile;
Fließmittel 3:	Chloroform/Methanol (95 + 5) Volumenteile;
Fließmittel 2 und 3:	aufeinanderfolgend ohne Trocknen der Platten.
Detektion:	1) UV-Lampe; 2) nach aufeinanderfolgender Behandlung mit Reagens 2 und Reagens 3, Reaktionszeit etwa 5 min;
Reagens 1:	0,1 % NaNO ₂ in KOH ($c = 1$ mol/l);

Reagens 2: 0,2 % α -Naphthol in KOH ($c = 1 \text{ mol/l}$);
Reagens 3: 0,5 % bis 1,0 % Ammoniumsulfamat in Methanol.

A.5.2 Derivatisierungsverfahren

Die TLC-Platte wird nach der Entwicklung an der Luft oder mit einem in der Hand gehaltenen Heißlufttrockner (z. B. Haartrockner) für 1 min oder 2 min getrocknet. Als Nächstes wird die Platte für 30 s bis zu 1 min in Reagens 1 und anschließend für 30 s bis zu 1 min in Reagens 3 eingetaucht. Die Platte wird wie zuvor getrocknet und dann für 1 min in Reagens 2 getaucht. Anschließend wird die Platte mit einem Heißlufttrockner getrocknet. Anstelle des Eintauchens ist auch das Versprühen der Reagenzien mit einem Zerstäuber möglich.