

APTITUD SANITARIA DE LAS TINTAS EMPLEADAS EN TATTOOS

Trabajo de Fin de Máster

Autora:

Alodia Sánchez Lardiés

Directoras:

M. Cristina Nerín de la Puerta

Isabel Nerín de la Puerta

Departamento de Química Analítica

Facultad de Ciencias

Zaragoza, septiembre de 2022

ÍNDICE

1.	RESUMEN/ABSTRACT	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
2.1.	Perspectiva histórica	2
2.2.	Tatuajes	3
2.3.	Eliminación de tatuajes permanentes	4
2.4.	Composición de las tintas empleadas en los tatuajes	5
2.5.	Legislación	6
2.5.1.	Legislación europea	7
2.5.2.	Legislación española	7
3.	OBJETIVOS	8
3.2.	Objetivo general	8
3.3.	Objetivos específicos	8
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	9
4.1.	Muestras	9
4.2.	Reactivos	10
4.3.	Técnicas de análisis de las tintas empleadas en tatuajes	10
4.3.1.	Cromatografía de líquidos con detección de masas	10
4.3.2.	Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	11
4.4.	Análisis por UPLC-MS-QTOF	12
4.4.1.	Desarrollo experimental del análisis de los componentes orgánicos no volátiles	13
4.4.2.	Identificación de los componentes orgánicos no volátiles	14
4.5.	Análisis por ICP-MS	14
4.5.1.	Desarrollo experimental del análisis de los elementos inorgánicos	15
4.5.2.	Identificación de los elementos inorgánicos	16
5.	RESULTADOS	16
6.	DISCUSIÓN	21
7.	CONCLUSIONES	23
8.	BIBLIOGRAFÍA	24
9.	ANEXOS	26

1. RESUMEN/ABSTRACT

En las últimas décadas, los tatuajes han experimentado un importante crecimiento en la sociedad, dejando de ser algo marginal o carcelario convirtiéndose en algo habitual.

Las tintas empleadas en la realización de tatuajes son una mezcla de sustancias químicas, la mayoría componentes orgánicos, aunque también pueden contener elementos inorgánicos, que pueden suponer un riesgo para la salud una vez depositadas en las dermis, capa intermedia de la piel. Sorprendentemente, hay un escaso conocimiento e información sobre la composición de las mismas. Aunque hasta hace poco no había legislación para controlar la composición de las tintas empleadas en los tatuajes, en enero de 2022 entró en vigor el Reglamento 2020/2081 en el que se aplican restricciones específicas a determinados compuestos.

En vista a todo ello, este trabajo tiene como principal objetivo ofrecer información sobre la composición de las tintas empleadas en los tatuajes mediante el análisis de tintas de diversos colores recogidas de diferentes gabinetes de Zaragoza. Para ello se han realizado ensayos de identificación de los componentes orgánicos no volátiles mediante UPLC-MS-QToF y de identificación de los elementos inorgánicos mediante ICP-MS.

Una vez realizados los análisis y la evaluación de los resultados, se puede afirmar que hay presencia de sustancias orgánicas no volátiles, de las cuales gran número de ellas no se han podido identificar. En cuanto a los elementos inorgánicos, se ha detectado Zn, Al, Ti, Cu y Mo en las tintas. Por ello, se deben realizar controles más exhaustivos sobre las tintas que garanticen la seguridad de los individuos que deciden tatuarse.

In recent decades, tattoos have experienced a significant growth in society, no longer being something marginal or prison, but becoming commonplace.

The inks used in tattooing are a mixture of chemical substances, mostly organic components although they may also contain inorganic elements, which can pose a health risk once introduced in the dermis, the intermediate layer of the skin. Surprisingly, there is very little knowledge and information about their composition. Although until recently there was no legislation to control the composition of inks used in tattooing, in January 2022 Regulation 2020/2081 came into force, applying specific restrictions to certain compounds.

In view of all this, the main objective of this work is to provide information on the composition of the inks used in tattoos by analyzing of inks collected from different cabinets of Zaragoza. For this purpose, the identification of non-volatile organic compounds has been

carried out by UPLC-MS-QToF and the identification of inorganic elements was carried out by ICP-MS.

Once the analyses and the evaluation of the results have been carried out, it can be affirmed that there is a presence of non-volatile organic compounds, of which a large number of them could not be identified. As for inorganic elements, Zn, Al, Ti, Cu and Mo have been detected in the inks. Therefore, more exhaustive controls should be carried out on the inks to ensure the safety of individuals who decide to get tattooed.

2. INTRODUCCIÓN

La moda de tatuarse en la piel todo tipo de logos, dibujos y letras va en considerable aumento en todo el mundo. Para ello, se utilizan tintas de múltiples colores y naturaleza, que son en realidad una mezcla de compuestos químicos.

2.1. Perspectiva histórica

En la sociedad actual la imagen ha cobrado un valor muy alto.

El culto al cuerpo está muy presente en los medios de comunicación, en particular en la publicidad.

La imagen corporal se vincula estrechamente a la identidad de la persona. Así, en la búsqueda de la identidad tanto individual como grupal surge la transformación corporal (*body art*) como una forma de diferenciación del resto de individuos. Una de las formas de transformación corporal es el tatuaje, constituyendo una corriente de moda actual¹.

Las motivaciones psicológicas de tatuarse son variadas: belleza, moda, pertenencia a grupo, sexuales, rebeldía, espiritualidad...En definitiva subyace la necesidad de sentirse diferente².

Los primeros vestigios de transformación del cuerpo se hallaron en una momia en un glaciar de Austria de una antigüedad de 5300 años. Se caracterizaba por poseer tanto en la espalda como en las extremidades, más de 50 rayas que fueron, probablemente, resultado de un ritual³.

En algunos momentos de la Historia los tatuajes han sido utilizados por sectores marginales de la sociedad (militares, marineros, presos...) aunque las últimas décadas se ha generalizado como una práctica frecuente para numerosas personas.

Actualmente personas con gran proyección social (músicos, deportistas, artistas, ...) muestran sus cuerpos tatuados reforzando esta práctica en la población general, con influencia especial en los jóvenes.

2.2. Tatuajes

El término «tatuarse» hace referencia al acto de grabar dibujos permanentes en la piel, introduciendo pigmentos exógenos en la dermis^{1,3}.

Existe una gran variedad de investigaciones sobre los aspectos motivacionales que conducen a realizarse tatuajes².

El hecho de tatuarse parece que conlleva una experiencia positiva y placentera, por la liberación de endorfinas (segregadas por el hipotálamo e hipófisis, llamadas popularmente *hormonas de la felicidad*). Cuando se reciben los pinchazos de las agujas se genera una adicción psicológica que conlleva una pulsión para realizarse más tatuajes en el futuro. Así, se ven personas con numerosos tatuajes incluso hasta llegar a cubrirse casi toda la superficie de piel³.

En Europa, se calcula que un 12 % de la población se tatúa, es decir, más de 60 millones de personas tienen uno o más tatuajes, y en Estados Unidos la prevalencia de personas tatuadas asciende hasta un 24 %. Esta cifra se vuelve más significativa teniendo en cuenta que la prevalencia de personas tatuadas se estima en un 36% de personas menores de 40 años y muchos individuos deciden tatuarse por primera vez entre los 16 y los 20 años. Con esta tendencia, la prevalencia de personas con tatuajes aumentará considerablemente en las próximas décadas^{3,4,5}.

Sin embargo, la realización de los tatuajes no es inocua puesto que conlleva numerosos riesgos que no siempre se conocen, tanto para los tatuadores como para los tatuados.

El ejercicio de tatuar supone una agresión. Consiste en la punción con agujas que penetran por la epidermis hasta la dermis donde se deposita la tinta de forma permanente, lo que conlleva una exposición a largo plazo a sustancias químicas que se inyectan, incluidos sus productos de degradación⁶.

La dermis, capa intermedia de la piel, tiene nervios y capilares sanguíneos. A pesar de que las células de la piel encapsulan la tinta, como cuerpo extraño que es, se puede producir una migración al torrente sanguíneo de los compuestos que forman los pigmentos y componentes de la tinta.

Los tatuajes se pueden clasificar en tres grupos:

- Traumáticos: cuando un determinado material se integra en la dermis de forma involuntaria. Por ejemplo, cuando se produce un pinchazo con algún material como el grafito.
- Cosméticos o micropigmentaciones: empleados como maquillaje permanente en ojos, labios o cejas.
- Decorativos: dibujos permanentes en la piel que dotan al individuo de un determinado rasgo distintivo.

Estos últimos pueden ser llevados a cabo por profesionales o por personas *amateur*. Los tatuajes realizados por profesionales se hacen a través de una pistola de tatuar y tienen mayor calidad artística. En principio, deben ejecutarse bajo unas severas condiciones higiénico-sanitarias en un centro habilitado legalmente para ello, bajo control de las administraciones correspondientes. Por otro lado, los tatuajes no profesionales habitualmente se realizan por personas no cualificadas que están empezando a realizarlos y no suelen tener calidad artística, por lo que sus efectos secundarios pueden verse incrementados ya que es posible que no depositen adecuadamente la tinta en la dermis.

Los efectos secundarios sobre la salud por tatuajes permanentes son de diversos tipos:

- Locales: procesos inflamatorios, infecciosos, lesiones psoriasiformes (Koebner), tumores de piel, ...
- Sistémicos: cardiopatías, adenopatías, ...

Además, durante la ejecución del tatuaje el pigmento penetra en la dermis y puede entrar en contacto con capilares sanguíneos donde existe la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas. Este riesgo va a depender de las condiciones higiénico-sanitarias en las cuales se lleve a cabo el tatuaje y de la técnica del tatuador.

Habitualmente, cuando después de tatuarse aparecen lesiones, los afectados acuden inicialmente al centro donde se les realizó el tatuaje. Por ello, no se han desarrollado estudios epidemiológicos que hayan generado un amplio conocimiento sobre estas afecciones¹.

2.3. Eliminación de tatuajes permanentes

Aunque la mitad de los tatuados se arrepienten de haberse tatuado, son pocos los que optan por su eliminación.

Las técnicas antiguas (abrasión, cauterización química, escisión quirúrgica; producen alergias, cicatrices y despigmentación) son muy traumáticas.

El láser es menos abrasivo y con menos reacciones alérgicas. Los tratamientos constan de 4 a 10 sesiones³.

2.4. Composición de las tintas empleadas en los tatuajes

Aunque la mayoría de los tatuajes permanentes son negros, su tendencia creciente de popularidad ha generado el desarrollo de tintas de todo tipo de colores, posibilitándose así diseños de lo más espectaculares.

Las tintas empleadas para tatuar contienen una mezcla compleja de pigmentos, muy insolubles, dispersos en agua y alcohol, con aditivos como conservantes o agentes espesantes. Los pigmentos se clasifican químicamente en tres grupos en función de su origen: vegetales, inorgánicos y orgánicos. El negro de humo, el dióxido de titanio o los óxidos de hierro son los pigmentos inorgánicos que más se utilizan. El dióxido de titanio suele estar asociado a tintas de color blanco⁷. Los pigmentos son los responsables de crear el efecto visual y se caracterizan por su alta estabilidad a la luz y su resistencia química^{3,4,5}.

Las tintas de colores pueden diluirse o mezclarse para generar otros colores. La mayoría de los tatuadores profesionales compran las tintas con el color definitivo y otros optan por realizar su propia mezcla de tinta utilizando un pigmento seco⁷. No obstante, tatuadores consultados aseguran que la tinta más utilizada es la negra.

Los pigmentos orgánicos presentes en las tintas de tatuar se usan originalmente para usos industriales en lacas, revestimientos, plásticos, textiles o tintas de impresión en los que se aceptan unas especificaciones de pureza bajas⁵.

La acción de tatuar conlleva la exposición del cuerpo a una mezcla compleja de sustancias químicas. Estas mezclas pueden poseer sustancias asociadas a la carcinogenicidad como aminas aromáticas primarias (PAAs) o hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs). Por tanto, el cuerpo podría verse expuesto a un gran peligro a largo plazo.

Sin embargo, hay un escaso conocimiento e información sobre la composición y los riesgos de las tintas usadas en tatuajes. Otra preocupación es la posible migración de los componentes de la tinta al drenaje de los ganglios linfáticos además de su posible transformación metabólica en sustancias más tóxicas³.

Tras la aplicación de la tinta, únicamente una parte de ella permanece en la dermis y el resto es transportada al torrente sanguíneo a través del sistema linfático. En un estudio sobre

ratones tatuados, se encontraron pigmentos depositados en los ganglios linfáticos próximos a las zonas tatuadas⁵.

Aproximadamente se inyecta un 1 mg de tinta por cm² de superficie de tatuaje. Por lo tanto, grandes dosis de tinta con sus componentes como hidrocarburos policíclicos aromáticos (PHAs) o compuestos azoicos, pueden encontrarse en los ganglios linfáticos años después de realizarse el tatuaje de color. En un estudio se encontraron aminas aromáticas primarias, por encima de límites permitidos, en tintas rojas y marrones⁴.

Otros riesgos van asociados a la presencia de elementos inorgánicos como Ti, Ba, Al, Co, Hg, Am, Cd, Cr, Cb, Pb, Ni, Sr. En un estudio en Alemania, el 68 % de los tatuados expresaron haber tenido complicaciones, en especial con el color rojo, que suele contener mercurio (cinabrio). Los tatuajes realizados con tinta roja o amarilla habitualmente ocasionan una reacción retardada fotoinducida denominada fotodermatosis. Esto se atribuye a la presencia de cadmio¹. El Níquel se identifica como el mayor alérgeno y algunos pigmentos parecen tener efecto citotóxico.

La adquisición de las tintas por parte de los centros de realización de tatuajes consultados se lleva a cabo principalmente a través de proveedores autorizados. Por otro lado, las compras a través de internet son comunes y no están sujetas a controles

Por consiguiente, debido al gran crecimiento que están experimentando los tatuajes, suponiendo grandes riesgos para la salud, es necesario estudiar con rigor la composición de las tintas usadas para establecer una regulación legal de su uso que minimice las patologías tanto a corto como largo plazo, menos conocidas.

Otros retos pendientes son sensibilizar a:

- La población susceptible de tatuarse de los riesgos que supone esta práctica.
- Los profesionales tatuadores para que realicen esta práctica con todas las medidas de higiene-sanitarias y con tintas no tóxicas¹.

2.5. Legislación

En vista a los riesgos expuestos para la salud humana que puede acarrear tener tatuajes permanentes en la piel, así como la propia realización de la técnica, es necesaria una legislación que facilite el conocimiento de las tintas que se encuentran autorizadas y que se establezcan con carácter general unos requisitos legales para la comercialización y utilización de los productos⁸.

2.5.1. Legislación europea

Hasta hace poco tiempo no existía homogeneidad en los marcos legislativos de los Estados Miembros lo que conllevaba a una fragmentación en el mercado interior existiendo diferencias en las tintas que pueden ser comercializadas, en función del país⁴.

Para mejorar la seguridad de los tatuajes, la Comisión europea adoptó el Reglamento (UE) 2020/2081 que entró en vigor en enero de 2022. En el que se restringe el uso a más de 4000 sustancias químicas en tintas para tatuajes permanentes e introduce unos límites de concentración máxima para sustancias individuales o grupos de sustancias utilizadas en las tintas para tatuajes. En esta lista de sustancias se encuentran colorantes azoicos, aminas aromáticas carcinógenas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), metales y metanol.

Quedan exentos de esta normativa los pigmentos azules y verdes, que se someterán a una regulación a partir de 2023 o serán retirados si la incumplen⁹.

2.5.2. Legislación española

En España, las tintas para tatuaje permanente están regulados por el Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. Las tintas empleadas en tatuajes se encuentran clasificadas como productos de estética que se definen como aquellos productos de aplicación en la piel que no tengan la consideración legal de cosméticos, medicamentos o productos sanitarios, por su composición, mecanismo de acción, de aplicación o duración.

La comercialización como producto sanitario de las tintas de tatuajes requiere de una autorización previa por parte de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), en base a la evaluación de la documentación toxicológica y de calidad que ofrecen las empresas que pretenden comercializar dichos productos. Para obtener la autorización, se debe presentar la documentación técnica relativa al producto relacionada con su seguridad (estabilidad, esterilidad, información analítica e información toxicológica). Una vez autorizados, se deben inscribir en el registro correspondiente. Las autorizaciones tienen una validez de cinco años¹⁰.

La AEMPS ofrece un listado de productos autorizados para tatuajes permanentes donde, actualmente, hay 2 marcas de tinta homologadas: Panthera y Skin Colors. Ambas marcas ofrecen una amplia gama de colores.

Sin embargo, no son las más usadas en los centros de tatuajes. Tatuadores contactados aseguran que al emplear las tintas homologadas los tatuajes pierden perdurabilidad, que es lo que el consumidor busca. Además, las tintas homologadas llevan un aplicador (Figura1) lo que provoca que se desaproveche un porcentaje de volumen de tinta. La composición que aparece en la etiqueta (Figura 1) de la tinta negra de la marca Skin Colors es algo pobre y confusa ya que únicamente aparecen como ingredientes agua, alcohol, glicerina, CI 77691 y Hamamelis.



Figura 1. Tinta de la marca Skin Colors, (a) Bote de tinta con aplicador; (b) Etiqueta del bote de tinta

3. OBJETIVOS

3.2. Objetivo general

En base a lo expuesto anteriormente, no existe un conocimiento claro de la composición de las tintas empleadas en tatuajes. El principal objetivo de este trabajo es analizar en profundidad las tintas de los tatuajes recogidas de diferentes establecimientos dedicados a realizarlos.

3.3. Objetivos específicos

Los objetivos específicos de este trabajo son los siguientes:

- Identificación de los componentes no volátiles y semi-volátiles mediante UPLC-MS-QToF.
- Identificación de los elementos inorgánicos mediante ICP-MS.
- Evaluación de los resultados obtenidos en ambas técnicas.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Muestras

La mayoría de las tintas empleadas en realizar tatuajes se pueden comprar a través de internet. Para la realización de este trabajo de fin de master se han estudiado tintas empleadas para tatuajes, recogidas en diferentes gabinetes de Zaragoza de diversas marcas, ampliamente utilizadas en España y Europa. En la Figura 2 se observan los viales de 20 mL donde se tomaron unos 3-4 mL de cada tinta. En los centros de tatuajes, los botes de tinta son conservados a temperatura ambiente.



Figura 2. Viales de 20 mL con tinta de diferentes gabinetes de realización de tatuajes

A continuación, se presenta la Tabla 1 donde aparecen todas las tintas que se sometieron al análisis especificando el color, la marca y la procedencia de cada una de ellas.

Tabla 1. Muestras de tinta sometidas a los ensayos de identificación

Nº	Color	Marca	Procedencia
1	Negro	Dynamic	Estados Unidos
2	Negro	Panthera	Italia
3	Ocre	Eternal	Estados Unidos
4	Gris	Eternal	Estados Unidos
5	Negra mate	Intenze	Estados Unidos
6	Azul eléctrico	Radiant	Estados Unidos
7	Amarillo	Dermaglo	Reino Unido
8	Marrón	Dynamic	Estados Unidos
9	Blanco	Nuclear	España
10	Ocre	Starbride	Estados Unidos
11	Blanco	Skin Colors	Unión Europea
12	Morado	Skin Colors	Unión Europea
13	Verde	Skin Colors	Unión Europea
14	Rojo	Skin Colors	Unión Europea
15	Verde	National	Estados Unidos
16	Rosa	Fusion Tain	Desconocida
17	Negro	Makkvrd Sumi	Japón
18	Verde	Viking Ink	Estados Unidos
19	Azul	World famous	Estados Unidos

Las tintas fueron adquiridas de 10 locales de tatuajes de Zaragoza. La ciudad tiene un total de 55 centros de realización de los mismos (datos solicitados al Instituto Municipal de Salud Pública).

4.2.Reactivos

Los reactivos empleados para llevar a cabo los ensayos fueron los siguientes:

- Agua desionizada ultrapura Milli-Q Ultramatic, Chemie S.A.
- Metanol con N° CAS 67-56-1, Honeywell
- Ácido nítrico con N° CAS 7697-37-2, Scharlau
- Disolución estándar multicomponente 6 para ICP, SIGMA-ALDRICH
- Estándar de mercurio para ICP, Fluka

4.3.Técnicas de análisis de las tintas empleadas en tatuajes

En función del tipo de componente a estudiar, volátil o no volátil, se realizó un procedimiento específico para su identificación, con el empleo de dos técnicas muy potentes: UPLC-MS-QToF (alta resolución) e ICP-MS.

4.3.1. Cromatografía de líquidos con detección de masas

La técnica empleada para el análisis de sustancias orgánicas no volátiles fue la cromatografía de líquidos de Ultra-alta Resolución asociada a un espectrofotómetro de masas (UPLC-MS-QToF) que permite la separación e identificación de los compuestos presentes en la muestra. Adicionalmente, las muestras se analizaron por UPLC-IMS- QToF. El IMS es la tecnología más avanzada, denominada movilidad iónica (Ion Mobility).

Esta técnica analítica surge como mejora de la cromatografía líquida convencional. En UPLC-MS-QToF se utilizan columnas cromatográficas con menor tamaño de partícula aumentando así la eficacia de la separación, la velocidad, la resolución y la sensibilidad. Además, permite la identificación de compuestos a partir de espectros de masas de alta resolución, en el que los fragmentos de masas contienen 4 cifras decimales¹¹.

A continuación, se va a explicar brevemente el fundamento de la técnica UPLC-MS-QToF.

Los compuestos, presentes en la muestra líquida inyectada, se separan en el sistema UPLC y seguidamente son ionizados para pasar al sistema de detección (MS-QToF). El detector está formado por dos cámaras (cuadrupolos) donde el voltaje aplicado es diferente en cada una de

ellas. El primer cuadrupolo es de baja energía donde se seleccionan los iones con una relación m/z concreta y el segundo cuadrupolo es de alta energía donde se produce la fragmentación de los iones, al actuar como una celda de colisión. Seguidamente un tubo de tiempo de vuelo (ToF) separa los iones. El analizador QToF se emplea habitualmente para identificación de compuestos por su capacidad de barridos completos a muy alta resolución ofreciendo masas muy precisas de los componentes que se detectan en el sistema.

El modo de ionización por electrospray (ESI) en este caso, puede ser positivo (ESI+) o negativo (ESI-). En el modo positivo generalmente se obtienen los fragmentos de masa protonados con átomos de hidrogeno (H), pero también con sodio (Na) o potasio (K). En este caso de obtuvieron los datos en ambos modos¹².

4.3.2. Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

La técnica analítica empleada para la identificación de los elementos inorgánicos fue la Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS). Permite la identificación y cuantificación de elementos inorgánicos, incluso a nivel traza. La mayor ventaja de ICP-MS es su capacidad de análisis multielemental permitiendo así medir varios elementos simultáneamente en un tiempo de análisis corto.

El equipo ICP-MS está formado por seis compartimentos: el sistema de introducción de muestras, el plasma acoplado inductivamente (ICP), la interfaz, el sistema óptico de iones, el analizador de masas y el detector. En la preparación de las muestras se suelen utilizar diluyentes ácidos (ácido nítrico o ácido clorhídrico diluidos) o álcali.

La muestra se inyecta en forma líquida y es nebulizada en el sistema de introducción de muestras formando un aerosol que es transferido al plasma de argón. El plasma, a alta temperatura, ioniza y atomiza la muestra generando iones que son extraídos a través de la región de la interfaz hacia unas lentes electrostáticas (óptica de iones). Una vez allí, los iones son transportados hacia el analizador de masas de cuadrupolo, el cual separa los iones en función de su relación masa-carga (m/z) y son medidos en el detector. La señal de medida en el detector se ofrece en unidades de *recuentos por segundo* (CPS), que se corresponden con el número de iones que golpean al detector cada segundo. Estos datos se pueden convertir en un valor de concentración utilizando estándares de calibración de concentraciones conocidas de elementos para realizar una curva de calibración, lo que se conoce como calibración externa. La relación entre la señal (CPS) y la concentración es lineal hasta aproximadamente 8 a 12 órdenes de magnitud¹³.

4.4. Análisis por UPLC-MS-QTOF

El estudio de identificación de los componentes no volátiles se llevó a cabo empleando un sistema UPLC Acquity I-Class acoplado a un espectrofotómetro de masas Vion IMS-QToF (Waters, Manchester, Reino Unido)¹², mostrado en la Figura 3.



Figura 3. Instrumento UPLC-IMS-QToF/VION

El VION ofrece una mayor sensibilidad que UPLC-MS-QTOF ya que es capaz de determinar el parámetro de *movilidad iónica* (IMS) aportando datos adicionales para una identificación más precisa¹².

La separación cromatográfica se realizó utilizando una columna CORTECS C18 (2,1 × 100 mm, tamaño de partícula de 1,6 μm, tamaño de poro de 90 Å) a un caudal de 0,3 L·min⁻¹.

Las fases móviles empleadas en el cromatógrafo fueron:

- Fase A: Agua acidificada con 0,1% de ácido fórmico (v/v).
- Fase B: Metanol acidificado con 0,1% de ácido fórmico (v/v).

El gradiente de concentración de cada una de las fases móviles durante cada periodo de inyección se indica en la Tabla 2.

Tabla 2. Gradiente de concentración de las fases móviles

Tiempo (min)	% A	% B
0,00	95	5
7,00	0	100
7,00	0	100
11,00	95	5
13	95	5

Los datos fueron adquiridos en el espectrofotómetro de masas en los modos de iones positivo (ESI+) y negativo (ESI-) en un rango de masas de 50-1200 m/z con un tiempo de barrido de 0,2 segundos.

Las condiciones de ionización por electrospray (ESI) utilizadas se encuentran recogidas en la Tabla 3. La plataforma VION funciona a una temperatura ambiente de 25 °C.

Tabla 3. Condiciones de trabajo del detector MS-QTOF/VION

Voltaje del capilar (kV)	1
Cono de extracción (V)	30
T^a de la fuente (°C)	120
T^a de desolvatación (°C)	500
Flujo de gas del cono (L·h⁻¹)	50
Flujo de gas de desolvatación (L·h⁻¹)	800

4.4.1. Desarrollo experimental del análisis de los componentes orgánicos no volátiles

Debido a la baja solubilidad de las tintas, se llevó a cabo un experimento previo que permitió elegir el disolvente más adecuado para el desarrollo de un método analítico que permitiera la identificación de los componentes no volátiles mediante UPLC-MS-QToF.

En el primer ensayo, se emplearon metanol y agua Milli-Q como disolventes. El estudio se inició con la adición de 0,100 mg de tinta de la muestra 1 de la Tabla 1 con la ayuda de una espátula y 5 ml de disolvente en viales de 20 mL. El procedimiento se realizó con cada disolvente por separado. En la disolución que contenía metanol se observó la presencia de partículas en suspensión y fue necesario filtrarla con un filtro de 2 µm, apto para UPLC-MS-QToF/VION. Por otro lado, la disolución acuosa presentaba gran turbidez por lo que fue necesaria una centrifugación para eliminar la parte coloidal. El sobrenadante resultante fue transferido a un vial de 20 mL. Por último, se añadieron 2 mL de cada disolución a viales adecuados para la inyección en UPLC-MS-QTOF/VION. Se realizaron 2 réplicas de cada muestra.

De los resultados obtenidos, se concluyó que empleando agua Milli-Q como disolvente se observaban picos de interés y a menores tiempos de retención en los cromatogramas que no se apreciaban en la muestra que contenía metanol como disolvente. Por tanto, se optó por realizar el análisis de todas las muestras de tinta con agua Milli-Q.

El desarrollo experimental para la identificación de los componentes no volátiles en las tintas de los tatuajes consta de varias etapas, debido a la alta insolubilidad de los pigmentos. La preparación resultó ser compleja debido a las diferentes características de las tintas, algunas más diluidas que otras.

En primer lugar, se pesaron 0,100 mg de cada muestra de tinta en un tubo de centrifuga de 15 mL y se añadieron 5 mL de agua desionizada ultrapura Milli-Q. A continuación, se centrifugaron todas las muestras durante 10 minutos a 9000 rpm. Transcurrido el tiempo, el sobrenadante resultante se trasvasó, con ayuda de una pipeta Pasteur, a un vial de 20 mL. Finalmente, se adicionaron 0,3 mL de la disolución y 1,2 mL de agua Milli-Q a viales de inyección aptos para UPLC-IMS-QTOF/VION, mostrados en la Figura 4. Se realizaron 3 réplicas de cada muestra.

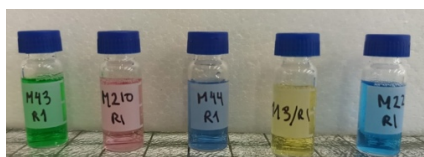


Figura 4. Viales de inyección en UPLC-IMS-QTOF/VION

Además, se preparó un blanco que se sometió a las mismas condiciones de preparación que las muestras de tinta. Se realizaron 3 réplicas.

4.4.2. Identificación de los componentes orgánicos no volátiles

La identificación de los componentes no volátiles de las muestras de tinta empleadas para tatuajes se realizó a través de un software incluido en el propio instrumento (MassLynx®, Quanlynx®) que permite analizar los cromatogramas obtenidos.

El paso inicial fue realizar una comparación entre los cromatogramas de los blancos y las muestras para detectar los picos que pertenecen a los diferentes componentes de las tintas.

El segundo paso fue analizar los datos a través del software MSDIAL que incluye una base de datos de componentes registrados.

4.5. Análisis por ICP-MS

Las mediciones de los posibles elementos inorgánicos presentes en las tintas se llevaron a cabo con un instrumento ICP-MS cuadrupolar (Agilent 7500, Palo Alto, CA, Estados Unidos) equipado con un nebulizador Babington y una cámara de pulverización de doble paso. El instrumento se muestra en la Figura 5.



Figura 5. Instrumento ICP-MS Agilent 7500

La detección de los elementos se hizo en modo de espectro completo, con 0,3 s por masa y 5 repeticiones, la velocidad de aspiración de la bomba peristáltica fue fijada en 0,3 revoluciones por segundo.

4.5.1. Desarrollo experimental del análisis de los elementos inorgánicos

Previamente, se realizó un ensayo con un barrido total de las masas ($m/z= 10-260$) para la identificación de los elementos inorgánicos en las tintas.

Inicialmente, se adicionó 1 mL de los viales de 20 mL resultantes del desarrollo experimental de los componentes no-volátiles, tanto del blanco como de las muestras de tinta, y 4 ml de agua Milli-Q a viales aptos para ICP-MS. A partir de los valores de intensidad de pico (CPS) obtenidos se realizó un estudio de comparación del blanco y las muestras que contenían tinta, mediante un test-T al 95% de confianza. Se concluyó que los posibles elementos inorgánicos que pueden estar presentes en las muestras sometidas al estudio fueron Li, Al, Ti, Cr, Ni, Cu, Zn, Mo, Zr, Ru, W, Pb y Hg.

Posteriormente, se prepararon disoluciones con estándares de los elementos que podían estar presentes en las tintas del ensayo anterior. Se empleó un estándar multicomponente de Li, Al, Ti, Cr, Ni, Cu, Zn, Mo y Pb y otro estándar de Hg. Se prepararon disoluciones de los estándares en el rango $1-100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para obtener las curvas de calibración externa. Fueron preparadas en medio ácido empleando ácido nítrico 5%.

En la preparación de las muestras de tinta para inyectar en el ICP-MS, se adicionó 1 mL de la disolución de los viales de 20 mL del sobrenadante resultante de la centrifugación del desarrollo experimental del análisis de los componentes no volátiles y se añadieron 3 mL de una disolución de HNO_3 5% a viales aptos para las mediciones en ICP-MS. Se preparó un blanco sometido a las mismas condiciones. Se realizó una réplica en cada caso.

4.5.2. Identificación de los elementos inorgánicos

La identificación de los elementos inorgánicos se realizó mediante las curvas de calibración externa de cada elemento a partir de la inyección de las disoluciones estándar.

A partir de las rectas de calibrado, se interpoló la concentración de cada elemento presente en las muestras de tinta.

5. RESULTADOS

A continuación, se exponen los análisis realizados para la identificación de los componentes no volátiles y metales.

2.6.Resultados del análisis de los compuestos no volátiles mediante UPLC-IMS-QToF/VION

Los resultados de los análisis mediante UPLC-IMS-QToF/VION se muestran de forma gráfica (cromatogramas) para cada muestra de tinta. En el ANEXO I aparecen los cromatogramas obtenidos en modo negativo (ESI-) y en el ANEXO II en modo positivo (ESI+).

Los cromatogramas se estudiaron en profundidad para identificar los componentes no volátiles. Las muestras de tinta fueron analizadas individualmente y se compararon con los blancos, para evaluar las diferencias de picos detectados.

El número de picos obtenidos en los cromatogramas, tanto en modo positivo como negativo fue muy elevado, de los cuales solo unos pocos se encontraban registrados en la base de datos que proporciona MSDIAL.

En la Tabla 4 se encuentran recogidos los posibles componentes no volátiles identificados en las muestras de tinta. Además, se muestran los usos de algunos de ellos.

A continuación, en la tabla aparecen los resultados obtenidos de la posible identificación de los compuestos no volátiles en las tintas de tatuajes.

Se registran los posibles compuestos presentes en las diferentes muestras de tinta, especificándose los tiempos de retención (t_r), las relaciones masa-carga (m/z), el modo de ionización (positivo o negativo) y los usos y clasificación de cada sustancia.

Aptitud sanitaria de las tintas empleadas en tattoos

Tabla 4. Componentes no volátiles identificados

Rt/min	Compuesto	CAS	Modo	m/z	Usos/Clasificación	Muestra
1,31	Ácido 3-Sulfamoilbenzoico	636-76-0	ESI(-)	200,0015		4
2,28	Ácido 4-Metilbenzenosulfónico	104-15-4	ESI(-)	171,01008	Surfactante	5, 18
1,82	1-(4-Fluorofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pyrazol-5-ol	122431-38-3	ESI(+)	219,0546	PFAS*	6
2,71	Ácido 1,5-Difenil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxílico	24058-92-2	ESI(+)	266,0931	Fármacos de interés terapéutico	6
4,28	Ácido 3-[5-(3,4-dihidroxi-4-metil-5-oxoxolan-2-il)-2-hidroxi-4-metoxifenil]propanoico	1212148-58-7	ESI(+)	263,0933		6
4,57	HO-PEG13-OH	17598-96-8	ESI(+)	513,8052	Humectante, solvente	17
4,86	HO-PEG16-OH	6812-36-8	ESI(+)	645,8835		17
2,32	HO-PEG5-OH	4792-15-8	ESI(+)	261,131	Cementos	2, 3, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 18
3,28	HO-PEG9-OH	3386-18-3	ESI(+)	432,2809	Humectante, solvente	2, 3, 7, 16, 17, 14
2,62	HO-PEG6-OH	2615-15-8	ESI(+)	305,1573	Humectante, solvente	2, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18
4,06	HO-PEG15-OH	28821-35-4	ESI(+)	696,4374		2, 6, 7, 10, 13, 14, 17
4,15	HO-PEG16-OH	6812-36-8	ESI(+)	740,4644		2, 6, 7, 10, 13, 14, 17
3,73	HO-PEG12-OH	6790-09-6	ESI(+)	564,3597	Coadyuvante, aditivo	2, 7, 10, 14
3,09	HO-PEG8-OH	5117-19-1	ESI(+)	393,2101	Humectante, solvente	2, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18
3,96	HO-PEG14-OH	1189112-05-7	ESI(+)	652,4114	Surfactante	2, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 17
2,87	HO-PEG7-OH	5617-32-3	ESI(+)	349,1842	Surfactante	2, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 18
3,45	HO-PEG10-OH	5579-66-8	ESI(+)	476,3074	Humectante, solvente	2, 7, 14, 16
3,6	HO-PEG11-OH	6809-70-7	ESI(+)	520,3333	Surfactante	2, 7, 10, 12, 13, 14, 16
3,85	HO-PEG13-OH	17598-96-8	ESI(+)	608,3854	Humectante, solvente	2, 10, 11, 12, 13, 14
4,23	HO-PEG17-OH	351342-04-6	ESI(+)	784,4636	Surfactante	14, 17
1,49	N-(5-Amino-1,3,4-tiadiazol-2-yl)metanosulfonamida	1100459-09-3	ESI(+)	116,0166		18
1,49	Dietil (4-fluorobencil)fosfonato	63909-58-0	ESI(+)	219,0544		3, 4, 6, 7, 13, 18
2,08	Hidroxitirosol Acetato	69039-02-7	ESI(+)	219,0543		3, 6, 8, 16, 19
1,3	Ácido 3-Sulfamoilbenzoico	636-76-0	ESI(+)	200,0008		4, 14
4,65	Etil 3-hydroxybenzoate	7781-98-8	ESI(-)	165,0548		13,14

*PFAS: Sustancias químicas perfluoroalquiladas

2.7. Resultados del análisis de los elementos inorgánicos mediante ICP-IMS

Los estándares fueron inyectados en el instrumento ICP-MS y se obtuvieron las correspondientes curvas de calibración externa, mostradas en la Tabla 5.

El rango de linealidad que se obtuvo para la mayoría de las rectas de calibrado fue de 0-100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Se muestran en el Anexo III.

Tabla 5. Curvas de calibración externa obtenidas mediante ICP-MS

Li	$y = 13670 x + 464,7$ $R^2 = 0,9996$	Mo	$y = 722x + 1189$ $R^2 = 0,9959$
Al	$y = 3936 x + 79810$ $R^2 = 0,9821$	Cr	$y = 2773x + 7093$ $R^2 = 0,9973$
Zn	$y = 1080x + 32260$ $R^2 = 0,9983$	Pb	$y = 1356x + 2386$ $R^2 = 0,9949$
Cu	$y = 2129x + 3358$ $R^2 = 0,9964$	Hg	$y = 2616x + 3770$ $R^2 = 0,9942$
Ti	$y = 2359x + 1157$ $R^2 = 0,9946$	Cr	$y = 2773 + 7093$ $R^2 = 0,9973$

A partir de las rectas de calibrado obtenidas de las disoluciones de los estándares detectaron concentraciones, en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, significativas de Cu, Zn, Al, Ti y Mo en las disoluciones inyectadas de tinta respecto a la del blanco, recogidas en la Tabla 6.

Tabla 6. Elementos inorgánicos identificados mediante ICP-MS

Muestra	Concentraciones de los elementos ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	Cu	Zn	Al	Ti	Mo
1	-	-	-	-	-
2	-	8	-	-	-
3	-	-	112	92	-
4	-	-	206	275	-
5	-	15	-	-	-
6	9	21	163	72	8
7	2	171	-	24	-
8	37	89	-	-	-
9	-	48	-	185	-
10	-	32	-	-	-
11	506	29	88	53	-
12	-	33	95	155	-
13	506	29	124	53	-
14	-	55	37	5	-
15	-	14	15	119	-
16	-	64	532	402	-
17	-	23	41	4	-
18	13	35	165	7	-
19	11	19	27	4	32

A continuación, se muestra la Tabla 7 que engloba los componentes identificados, tanto orgánicos como inorgánicos, en cada muestra de tinta analizada.

Aptitud sanitaria de las tintas empleadas en tattoos

Tabla 7. Compuestos orgánicos y elementos inorgánicos identificados en las muestras de tinta

Muestra	Compuestos orgánicos no volátiles (CAS)	Elementos inorgánicos
1	Ácido 3-Sulfamoilbenzoico (636-76-0), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0)	-
2	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG10-OH (5579-66-8), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG12-OH (6790-09-6), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8)	Zn
3	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG16-OH (6812-36-8), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0), Hidroxitirosol Acetato (69039-02-7)	Al, Ti
4	Ácido 3-Sulfamoilbenzoico (636-76-0), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0), Ácido 3-Sulfamoilbenzoico (636-76-0)	Al, Ti
5	Ácido 4-Metilbenzenosulfónico (104-15-4)	Zn
6	1-(4-Fluorofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pyrazol-5-ol (122431-38-3), Ácido 3-[5-(3,4-dihidroxi-4-metil-5-oxoxolan-2-il)-2-hidroxi-4-metoxifenil]propanoico (1212148-58-7), Ácido 1,5-Difenil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxílico (24058-92-2), HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0), Hidroxitirosol Acetato (69039-02-7)	Cu, Zn, Al, Ti, Mo
7	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG10-OH (5579-66-8), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG12-OH (6790-09-6), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0)	Cu, Zn, Ti
8	Hidroxitirosol Acetato (69039-02-7)	Cu, Zn
9	-	Zn, Ti
10	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG12-OH (6790-09-6), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8)	Zn
11	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG16-OH (6812-36-8)	Cu, Zn, Al, Ti
12	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG16-OH (6812-36-8)	Zn, Al, Ti
13	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0), Etil 3-hydroxybenzoate (7781-98-8)	Cu, Zn, Al, Ti
14	HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG10-OH (5579-66-8), HO-PEG11-OH (6809-70-7), HO-PEG12-OH (6790-09-6), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8), HO-PEG17-OH (351342-04-6), Ácido 3-Sulfamoilbenzoico (636-76-0), Etil 3-hydroxybenzoate (7781-98-8)	Zn, Al, Ti
15	-	Zn, Al, Ti
16	HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG10-OH (5579-66-8), HO-PEG11-OH (6809-70-7), Hidroxitirosol Acetato (69039-02-7)	Zn, Al, Ti
17	HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG16-OH (6812-36-8), HO-PEG9-OH (3386-18-3), HO-PEG13-OH (17598-96-8), HO-PEG14-OH (1189112-05-7), HO-PEG15-OH (28821-35-4), HO-PEG16-OH (6812-36-8), HO-PEG17-OH (351342-04-6)	Zn, Al, Ti
18	Ácido 4-Metilbenzenosulfónico (104-15-4), HO-PEG5-OH (4792-15-8), HO-PEG6-OH (2615-15-8), HO-PEG7-OH (5617-32-3), HO-PEG8-OH (5117-19-1), HO-PEG16-OH (6812-36-8), N-(5-Amino-1,3,4-tiadiazol-2-yl)metanosulfonamida (1100459-09-3), Dietil (4-fluorobencil)fosfonato (63909-58-0)	Cu, Zn, Al, Ti
19	Hidroxitirosol Acetato (69039-02-7)	Cu, Zn, Al, Ti, Mo

6. DISCUSIÓN

Como ya se ha expuesto en la introducción, la Comisión Europea ha establecido un nuevo Reglamento (UE) 2020/2081 para garantizar la seguridad de los consumidores, donde aparece un extenso listado de sustancias con límites máximos de concentración permitidos. Dicho reglamento entró en vigor en enero de 2022. A nivel nacional, la AEMPS ofrece un listado de una serie de tintas homologadas en donde únicamente se encuentran dos marcas: Panthera y Skin Colors. La mayoría de tintas que han sido sometidas a los análisis no se encuentran en el listado.

Los compuestos no volátiles fueron analizados mediante UPLC-MS-QToF/VION mediante la inyección de 3 réplicas de cada muestra de tinta y los correspondientes blancos. La preparación de las muestras resultó compleja debido a que existían diferencias entre unas tintas y otras, algunas estaban más diluidas. Todas eran muy insolubles y se hizo un experimento previo con agua Milli-Q y metanol como disolventes, a partir del cual se optó por utilizar agua Milli-Q para llevar a cabo los ensayos de identificación de los componentes de las tintas. Además, se hizo necesaria una centrifugación para eliminar la parte coloidal y poder inyectar la muestra en el instrumento. Esto significa que una buena parte de las tintas, la fracción no soluble, no ha podido ser analizada. Por tanto, los resultados obtenidos, mostrados en la Tabla 4, se refieren únicamente a la fracción soluble en agua. Una vez inyectadas las muestras y transcurrido el tiempo de análisis, se obtuvieron una serie de cromatogramas de las inyecciones tanto en modo positivo (ESI+) como en negativo (ESI-). El primer paso fue la comparación de los cromatogramas de las muestras con el blanco y se concluyó que hay un gran número de picos presentes en los cromatogramas de las tintas que no están en el blanco.

Los resultados de la Tabla 4 reflejan que los posibles componentes no volátiles, identificados a través de las bases de datos de MSDIAL, se encuentran mayoritariamente en las tintas de colores y con menor presencia en las tintas negras, las más demandadas. Además, ninguno de ellos aparece incluido en el Apéndice 13 del Reglamento (UE) 2020/2081. De los resultados obtenidos mediante UPLC-MS-QToF/VION, son pocas las sustancias que se han podido identificar mediante la base de datos que ofrece MSDIAL y la librería disponible actualmente en el instrumento empleado. Destaca la posible presencia del compuesto 1-(4-Fluorofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pyrazol-5-ol (CAS 122431-38-3), clasificado como PFAS, en la tinta azul de marca no homologada por la AEMPS. Esta familia de compuestos se caracteriza por una gran resistencia a la degradación debido a la fortaleza de sus enlaces carbono-flúor, lo que genera una fácil propagación de las mismas. Se ha comprobado que las

PFAS contaminan aguas subterráneas y superficies y el suelo, acumulándose así en el medio ambiente. Además, diversos estudios aseguran que las PFAS son tóxicas para la reproducción y algunas de ellas son disruptores endocrinos. Estas sustancias tienen propiedades surfactantes por lo que sería posible su presencia en las tintas para tatuajes¹⁴.

También se observó la posibilidad de que muchas muestras de tinta, todas ellas de colores, pudieran contener polietilenglicol (PEG) con diferente número de unidades de monómero. Estos polímeros tienen propiedades humectantes y surfactantes por lo que sería posible encontrarlos en las tintas.

El ácido 1,5-Difenil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxílico (CAS 24058-92-2) pertenece a la familia de las moléculas con grupo 1,2,4-triazol y según consultas bibliográficas este tipo de compuesto se usan para fármacos de interés terapéutico como estimulantes del sistema nervioso central, sedantes, compuestos contra la ansiedad o agentes antimicrobianos y antitumorales. Además, pueden interactuar con un centro metálico en diferentes posiciones para dar lugar a un complejo¹⁵.

En cuanto al resto de posibles componentes orgánicos no volátiles identificados, no se han encontrado usos ni clasificación mediante consultas bibliográficas.

Algunos de los componentes orgánicos no volátiles detectados, mediante UPLC-MS-QToF, pueden suponer un riesgo para salud humana. Por ello, habría que inyectar sus correspondientes estándares para asegurar su presencia.

Por otro lado, la contribución relativa de los metales a la composición de las tintas fue variable entre marcas y colores. Los elementos inorgánicos fueron detectados a través de la inyección de disoluciones estándar en ICP-MS.

Los elementos Zn, Ti y Al fueron los metales más encontrados en las tintas. El zinc se observó en el 84 % de las tintas y principalmente en la tinta amarilla ($171 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y marrón ($89 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), pero también en la mayoría de colores incluidas algunas tintas de color negro. El aluminio se observó en el 63% de las tintas y en gran medida en la tinta rosa ($532 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y también, en menor cantidad, en muchas tintas de colores. Entre las tintas negras únicamente se detectó el Al en la muestra 17 ($41 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). En Ti fue detectado en el 73 % de las tintas y mayoritariamente en la tinta rosa ($402 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y gris ($275 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). El Cu se detectó en el 37% de las tintas analizadas y se observó una gran presencia en las tintas blanca ($506 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y verde ($506 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). El Mo fue encontrado únicamente en dos tintas, ambas de color azul ($32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Sin embargo, sólo se pudo inyectar una réplica y varios estudios previos aseguran la presencia de metales tóxicos por lo que es necesario un control cualitativo de estas tintas.

El elemento inorgánico Zn aparece en el anexo XVII del Reglamento (UE) 2020/2081, con un límite de concentración máxima. La concentración detectada no sobrepasa dicho límite, pero hay que tener en cuenta que se ha detectado su presencia en la muestra inyectada en el ICP-MS y habría que realizar un control para deducir la concentración de Zn presente en la tinta que se va a inyectar en la dermis del individuo.

Por último, la Tabla 7 refleja que en prácticamente todas las tintas se han detectado posibles componentes orgánicos no volátiles y elementos inorgánicos. De las tintas recogidas destaca que la mayoría no aparecen en el listado que ofrece la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Algunas de las marcas, como Dynamic, son las más usadas por tatuadores ya que aseguran que con las tintas homologadas el tatuaje pierde calidad con el paso del tiempo y además el bote de tinta lleva un aplicador que hace que parte del volumen se pierda. Esto se traduce en que no hay un control que regule que se usen las marcas homologadas en los centros de realización de tatuajes. No obstante, en algunos gabinetes sí que las usan.

7. CONCLUSIONES

Tras la realización de este Trabajo de Fin de Máster, se ha llegado a una serie de conclusiones que se muestran a continuación.

Hoy en día, los tatuajes son un fenómeno generalizado y, por tanto, la regulación sobre ellos ha ido avanzando. Sin embargo, todavía no hay información clara sobre la composición de las tintas usadas en realizarlos. En base a los centros de tatuajes contactados, se puede asegurar que las tintas de marcas homologadas no son las más usadas. Por ello, hace falta un control sobre la composición de las tintas que más se usan en los gabinetes, que ofrezca información tanto a los tatuadores como a los tatuados.

Este trabajo ha sido un adelanto sobre la composición de las tintas empleadas en tatuajes. De los ensayos realizados, se concluye que a pesar de haber analizado únicamente la fracción soluble en agua de las tintas, este estudio pone de manifiesto que los tatuajes no están exentos de riesgos sanitarios. Los componentes de esta fracción son los de mayor movilidad y por tanto probablemente los que más daño pueden causar en el ser humano.

Por último, en vista al gran auge que están experimentando los tatuajes y que se prevé que aumenten en las próximas décadas, es necesario estudiar en profundidad la composición de las

tintas, especialmente las de colores, para poder identificar todas las sustancias que las componen y así poder hacer una evaluación de los riesgos sobre la salud humana, tanto a corto como a largo plazo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Mataix, J.; Silvestre, J. F. Reacciones Cutáneas Adversas Por Tatuajes Piercings. *Actas Dermosifiliogr.* 2009, 100 (8), 643–656. [https://doi.org/10.1016/s00017310\(09\)72277-x](https://doi.org/10.1016/s00017310(09)72277-x).
- (2) Wohlrab, S.; Stahl, J.; Kappeler, P. M. Modifying the Body: Motivations for Getting Tattooed and Pierced. *Body Image* 2007, 4 (1), 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.bodyim.2006.12.001>.
- (3) Islam, P. S.; Chang, C.; Selmi, C.; Generali, E.; Huntley, A.; Teuber, S. S.; Gershwin, M. E. Medical Complications of Tattoos: A Comprehensive Review. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2016, 50 (2), 273–286. <https://doi.org/10.1007/s12016-016-8532-0>.
- (4) Desmedt, B.; Vanhamme, M.; Deconinck, E. The Purity of Tattoo Inks, Screening Substances of High Concern. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2022, 129 (October 2021), 105123. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105123>.
- (5) Brungs, C.; Schmid, R.; Wolf, C.; Berg, T.; Korf, A.; Heuckeroth, S.; Hayen, H.; van der Bent, S.; Maijer, K.; Rustemeyer, T.; Karst, U. Tattoo Pigment Identification in Inks and Skin Biopsies of Adverse Reactions by Complementary Elemental and Molecular Bioimaging with Mass Spectral Library Matching. *Anal. Chem.* 2022, 94 (8), 3581–3589. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04922>.
- (6) JRC/European Commission. Safety of Tattoos and Permanent Make-up: Final Report; 2016. <https://doi.org/10.2788/011817>.
File:///Home/Ivan/Documents/FCEN/AFO/Seminario/LBNA27394ENN.En.Pdf
- (7) Agnello, M.; Fontana, M. Survey on European Studies of the Chemical Characterisation of Tattoo Ink Products and the Measurement of Potentially Harmful Ingredients. *Curr. Probl. Dermatology* 2015, 48, 142–151. <https://doi.org/10.1159/000369197>.
- (8) Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. <https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/cosmeticoshigiene/2021-cosmeticoshigiene/entrada-en-aplicacion-del-reglamento-2020-2081-que-restringe-el->

uso-de-determinadas-sustancias-en-tintas-para-tatuaje-o-maquillaje-permanente/

(Consultado: agosto 2022)

- (9) REGLAMENTO (UE) 2020/2081 DE LA COMISIÓN de 14 de diciembre de 2020 que modifica el anexo XVII del Reglamento (CE) n.º 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustanc.
- (10) Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.
- (11) Swartz, M. E. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* UPLC : An Introduction and Review. *J. Liq. Chromatography Relat. Technol.* 2005, No. May 2013, 37–41.
- (12) Song, X. C.; Canellas, E.; Dreolin, N.; Goshawk, J.; Nerin, C. A Collision Cross Section Database for Extractables and Leachables from Food Contact Materials. *J. Agric. Food Chem.* 2022, 70 (14), 4457–4466. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00724>.
- (13) Wilschefski, S. C.; Baxter, M. R. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects.* *Natl. Libr. Med.* 2019, 40 (3), 115–133.
- (14) European Chemicals Agency. <https://echa.europa.eu/es/hot-topics/perfluoroalkyl-chemicals-pfas> (Consultado: agosto de 2022)
- (15) Mohamed, A. M.; El-Sayed, W. A.; Ibrahim, A. A.; Abdel-Hafez, N. A.; Ali, K. A. K.; Mohamed, S. F. Recent Trends in the Chemistry of [1,2,4]Triazole[1,5-a]Pyrimidines. *Org. Prep. Proced. Int.* 2021, 53 (3), 211–239. <https://doi.org/10.1080/00304948.2020.1871310>.

9. ANEXOS

ANEXO I

A continuación, se muestran los cromatogramas obtenidos en modo negativo (ESI-).

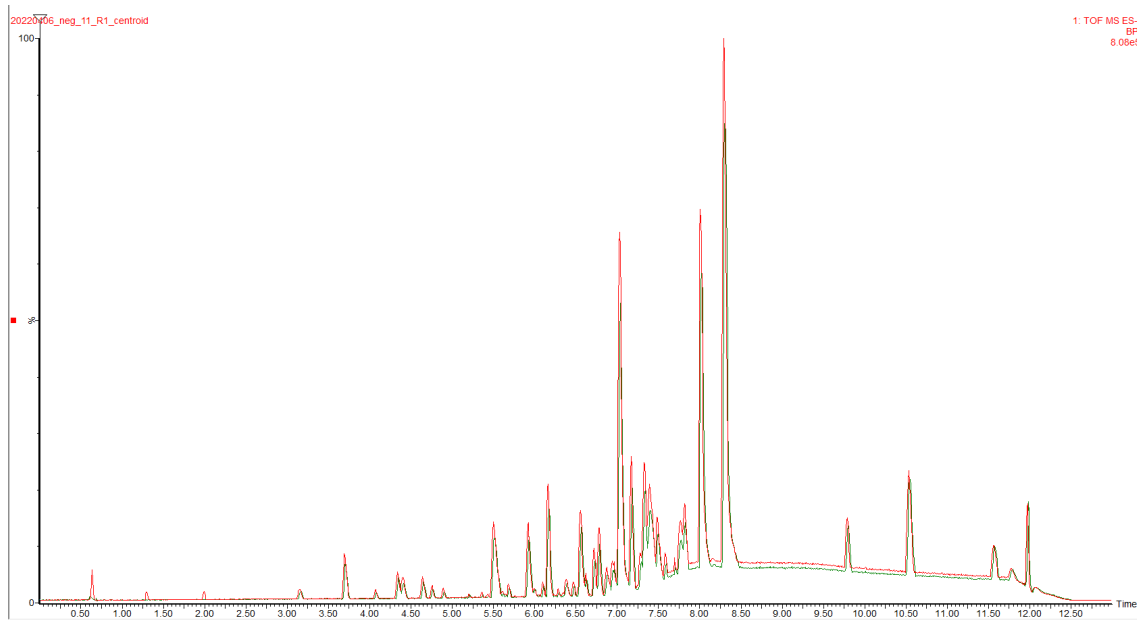


Figura 6. Comatograma de la muestra 1 (rojo) y blanco (verde)

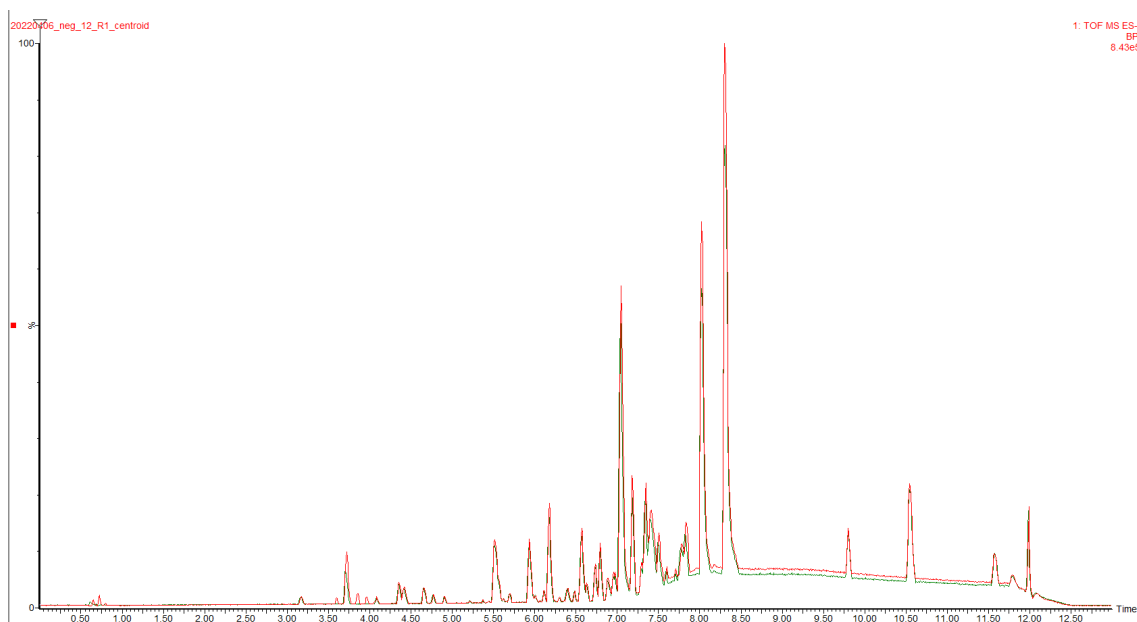


Figura 7. Comatograma de la muestra 2 (rojo) y blanco (verde)

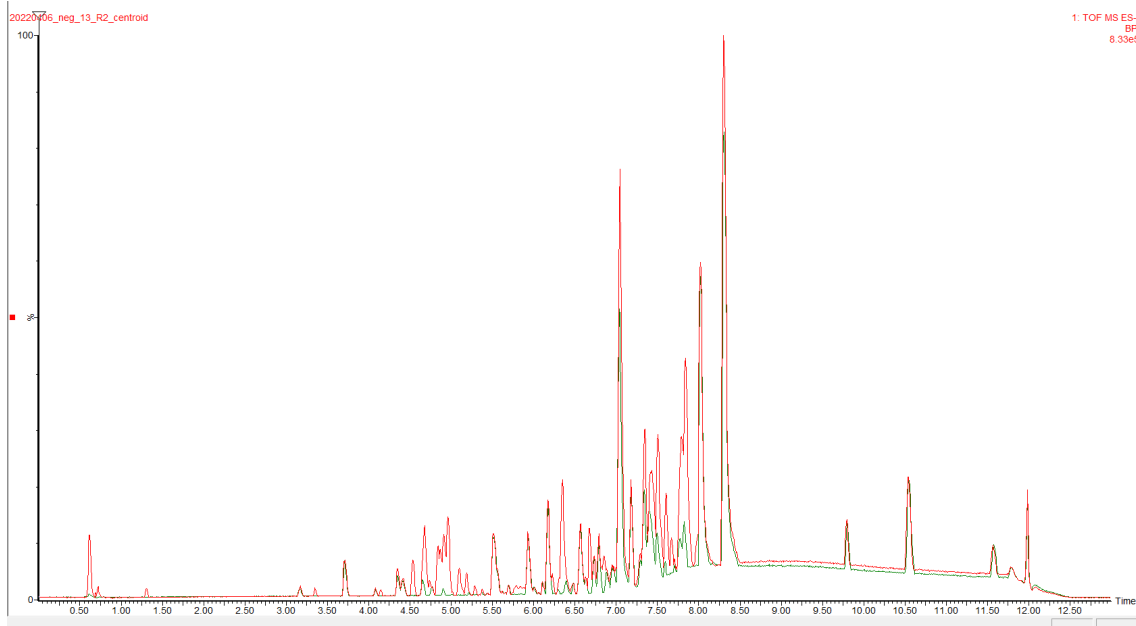


Figura 8. Comatograma de la muestra 3 (rojo) y blanco (verde)

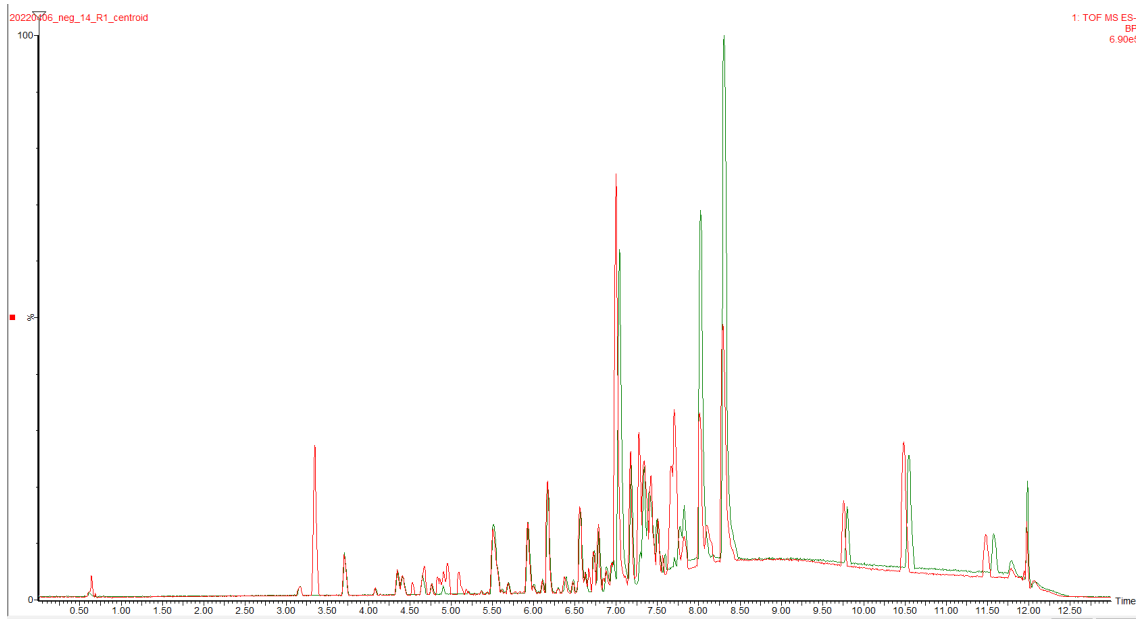


Figura 9. Comatograma de la muestra 4 (rojo) y blanco (verde)

Aptitud sanitaria de las tintas empleadas en tattoos

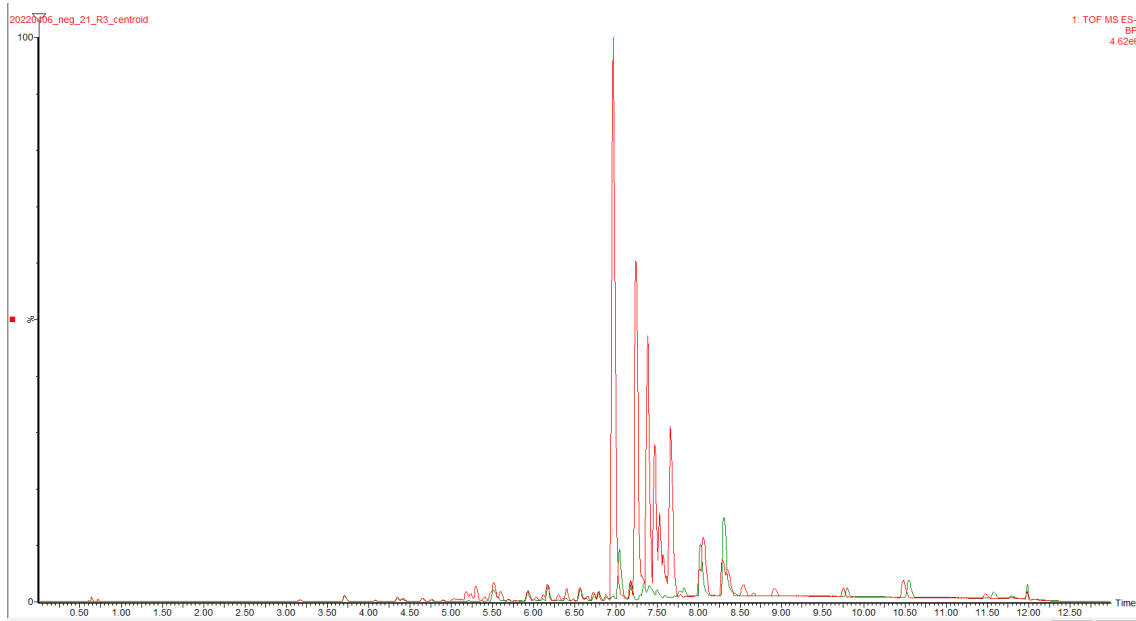


Figura 10. Comatograma de la muestra 5 (rojo) y blanco (verde)

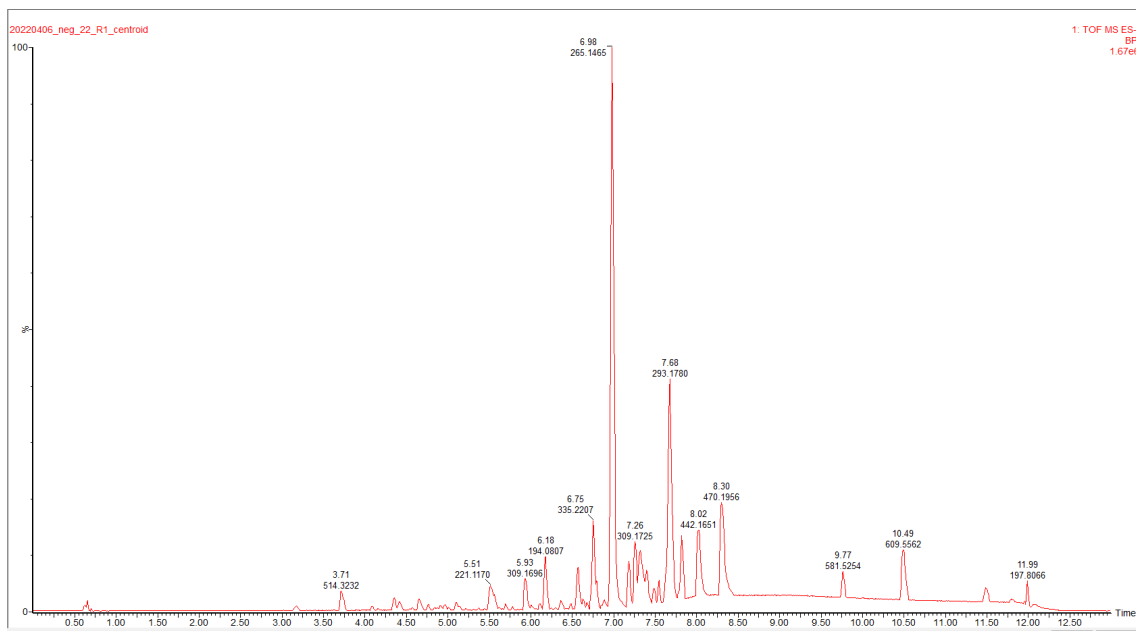


Figura 11. Comatograma de la muestra 6

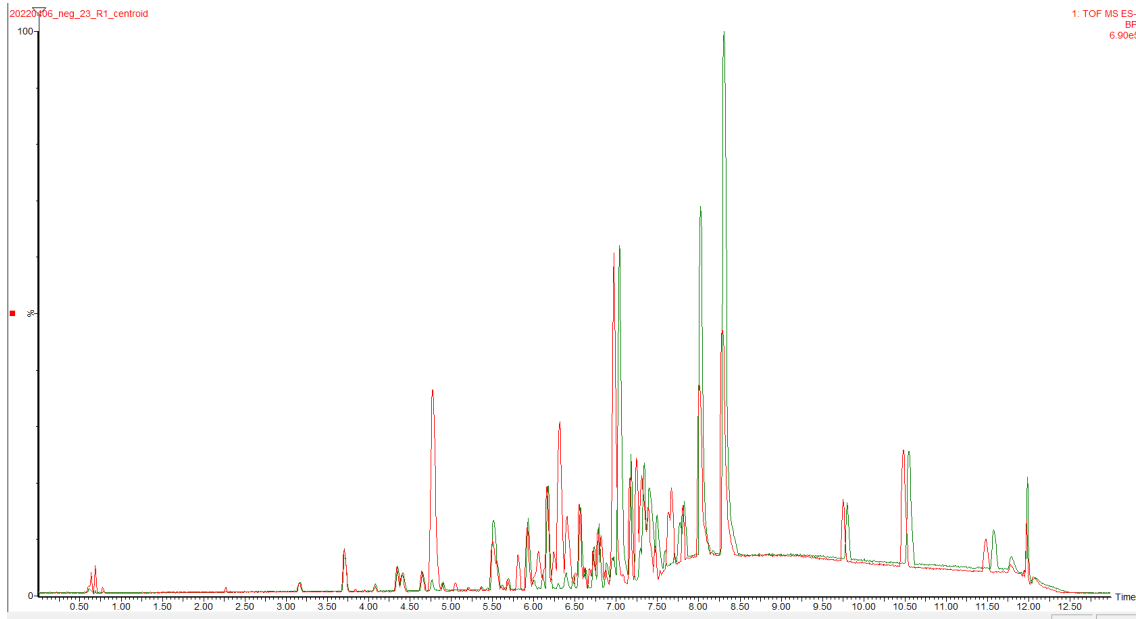


Figura 12. Comatograma de la muestra 7 (rojo) y blanco (verde)

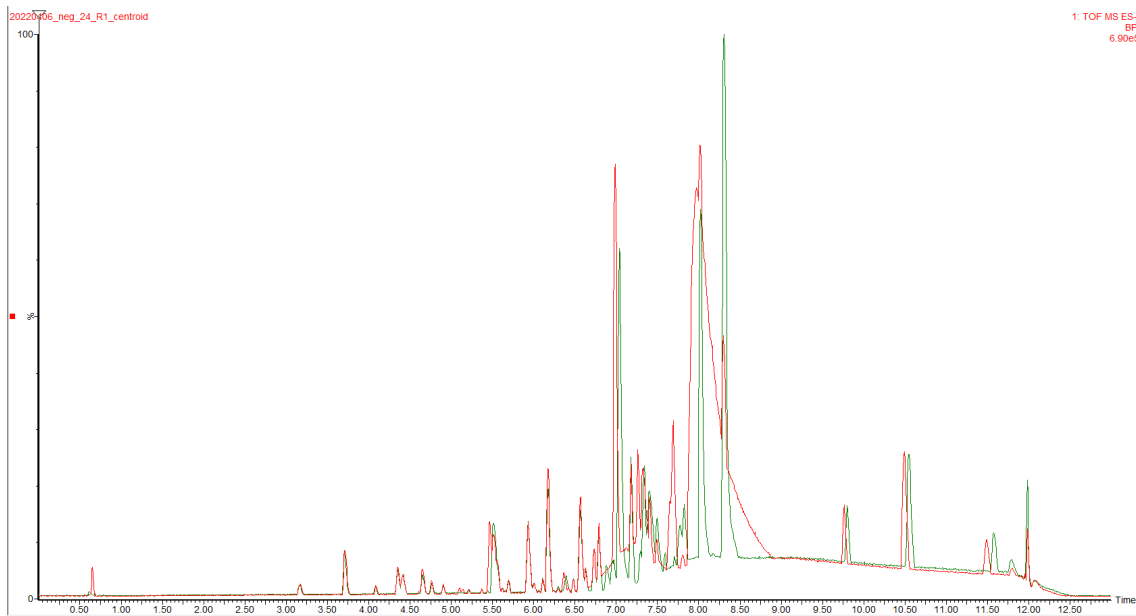


Figura 13. Comatograma de la muestra 8 (rojo) y blanco (verde)

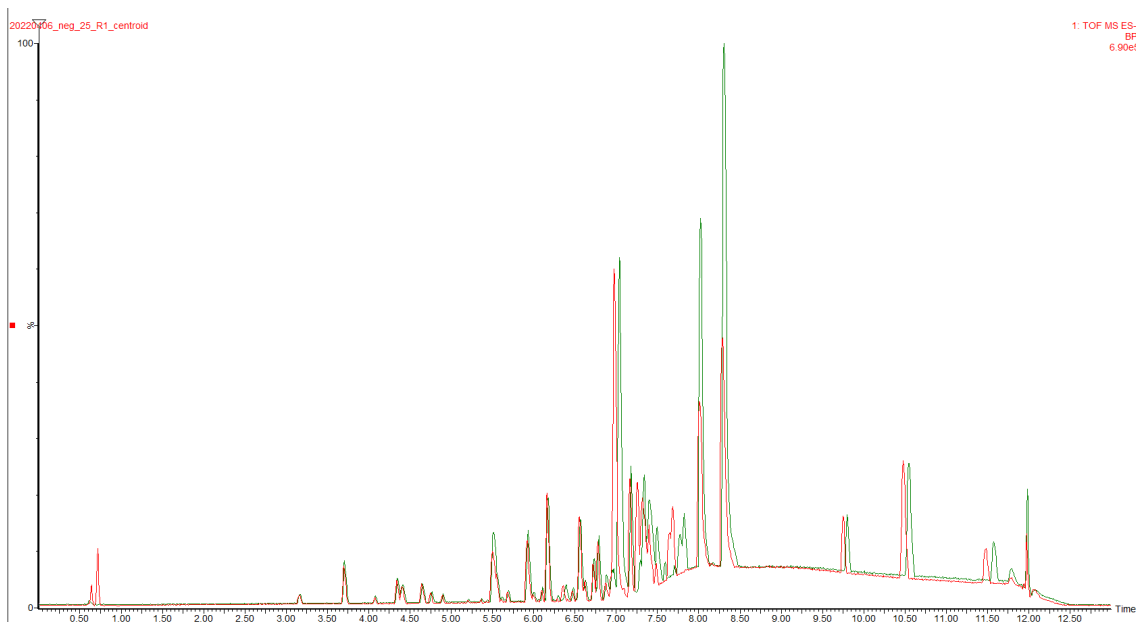


Figura 14. Comatograma de la muestra 9 (rojo) y blanco (verde)

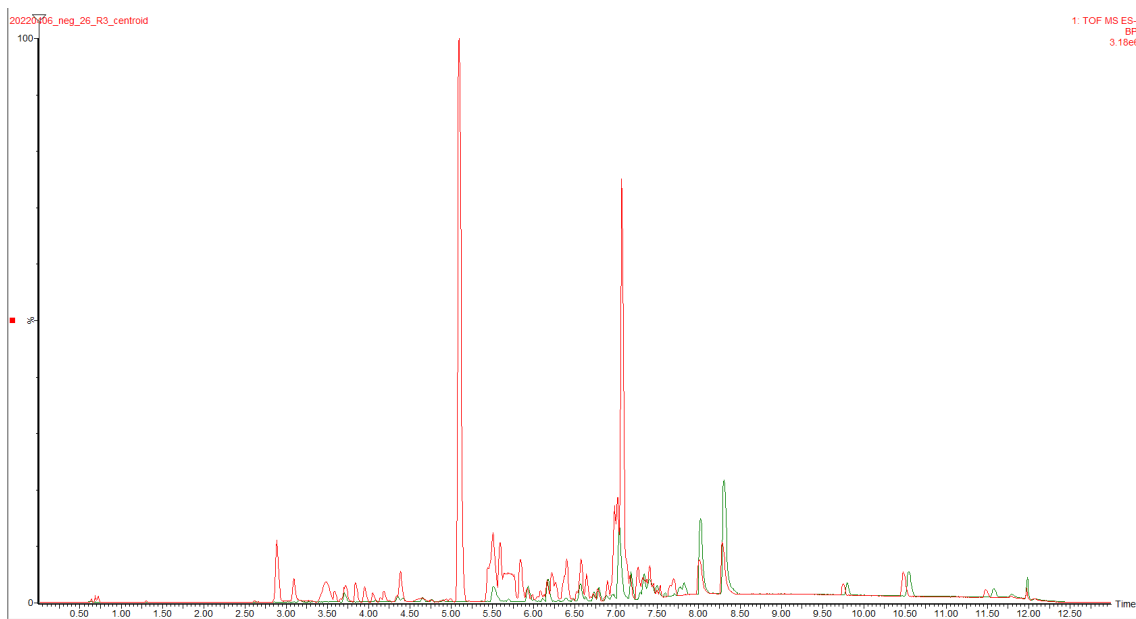


Figura 15. Comatograma de la muestra 10 (rojo) y blanco (verde)

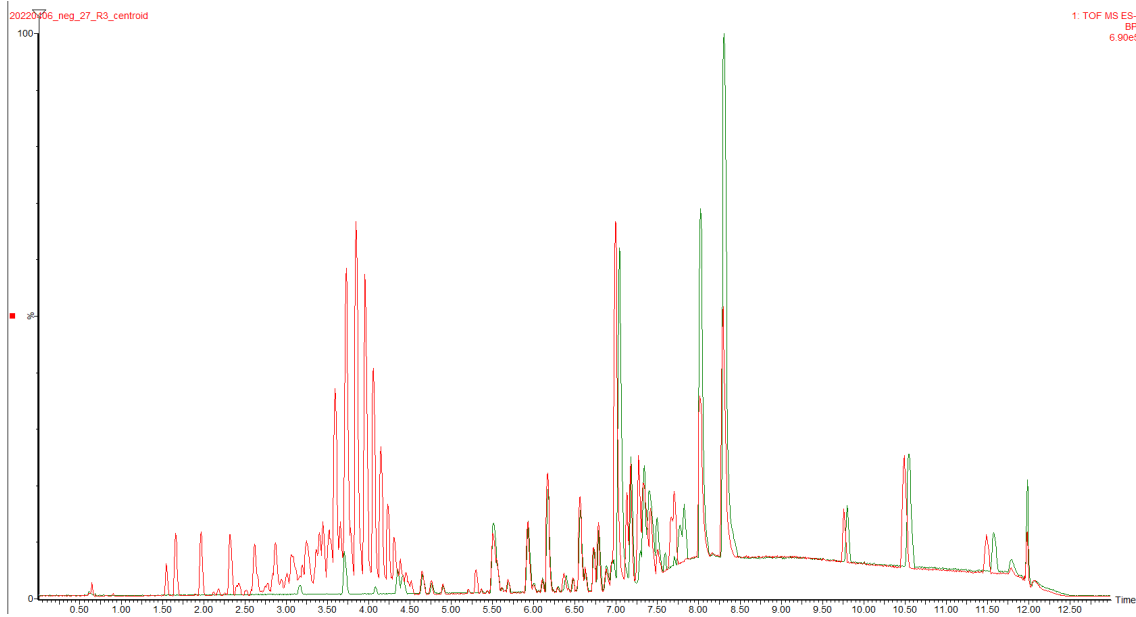


Figura 16. Comatograma de la muestra 11 (rojo) y blanco (verde)

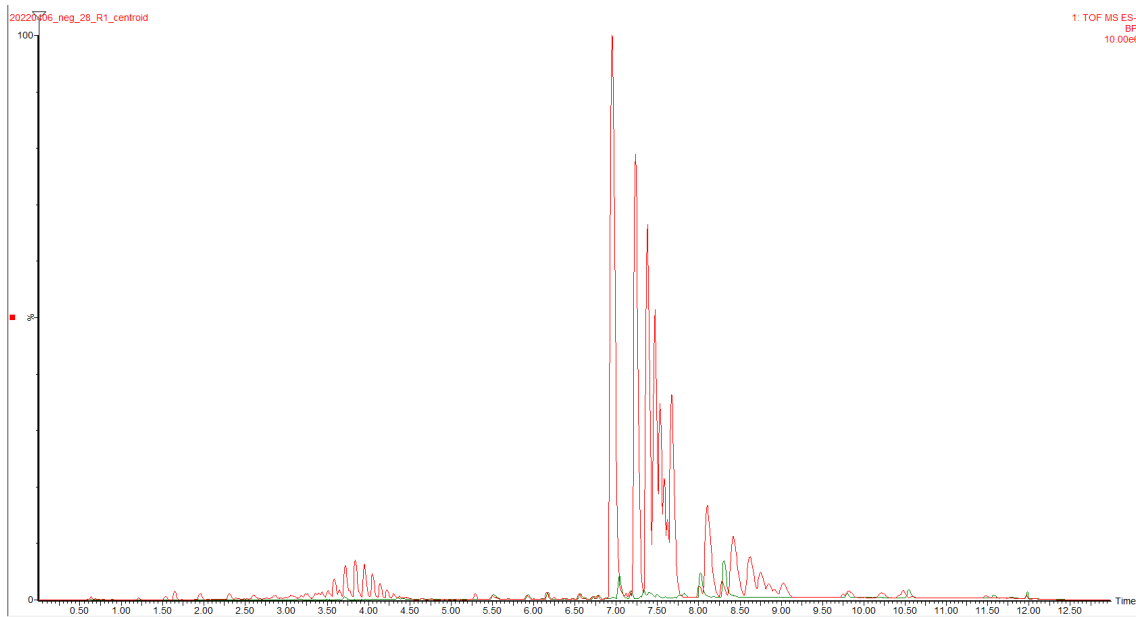


Figura 17. Comatograma de la muestra 12 (rojo) y blanco (verde)

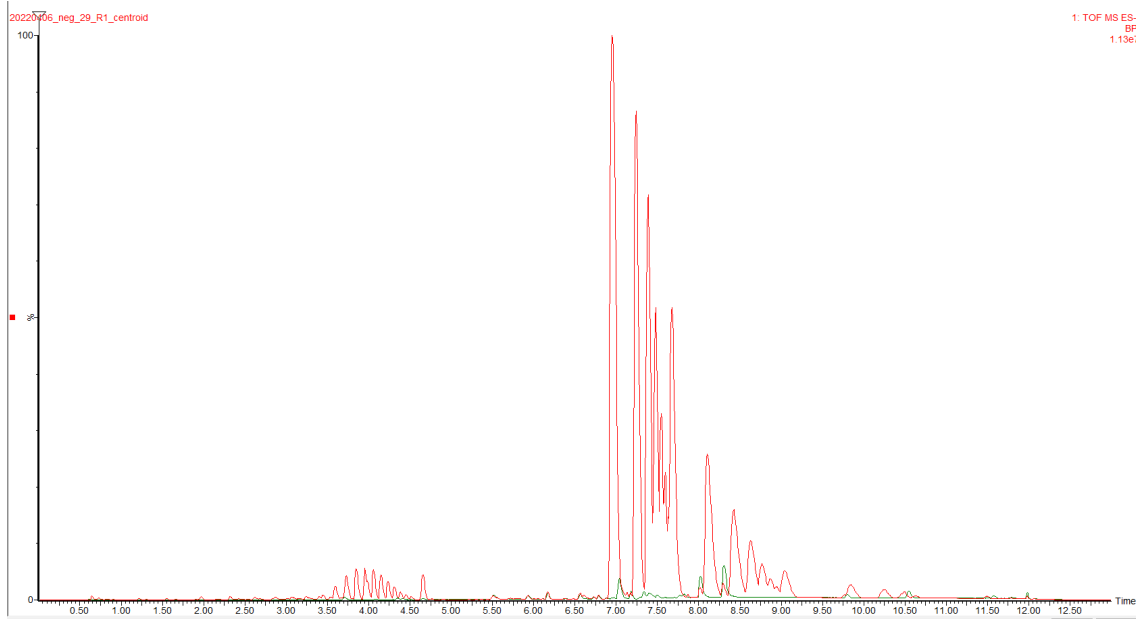


Figura 18. Comatograma de la muestra 13 (rojo) y blanco (verde)

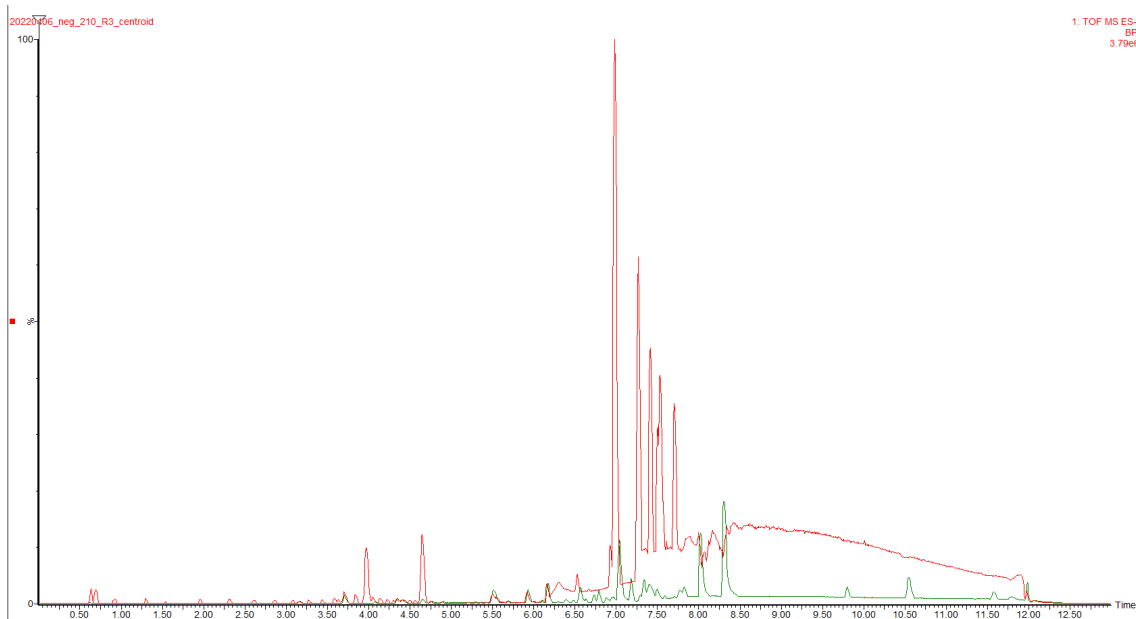


Figura 19. Comatograma de la muestra 14 (rojo) y blanco (verde)

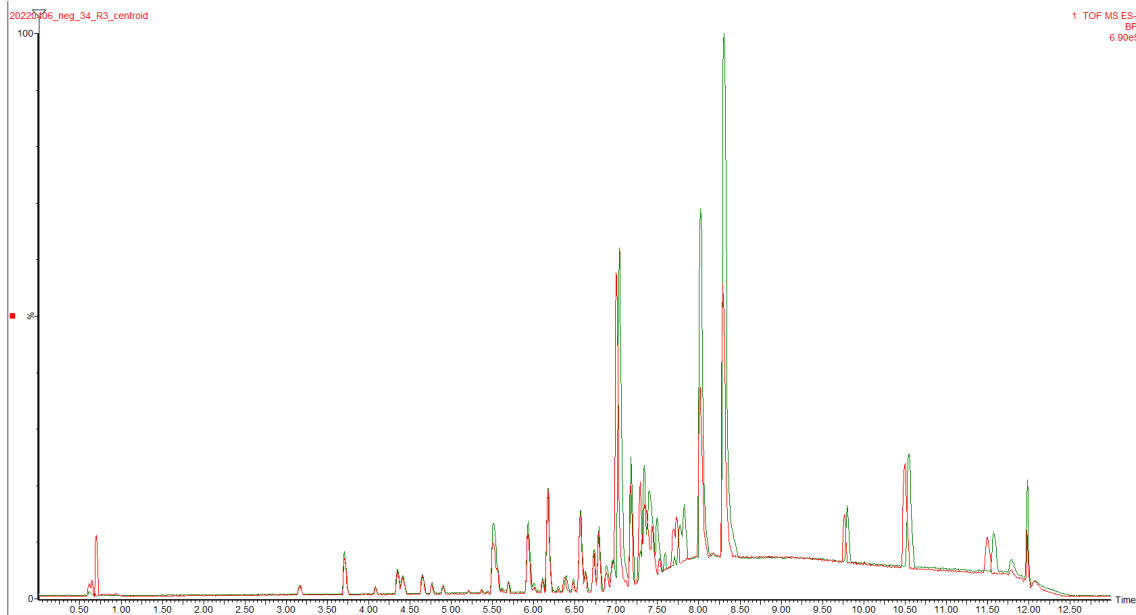


Figura 20. Comatograma de la muestra 15 (rojo) y blanco (verde)

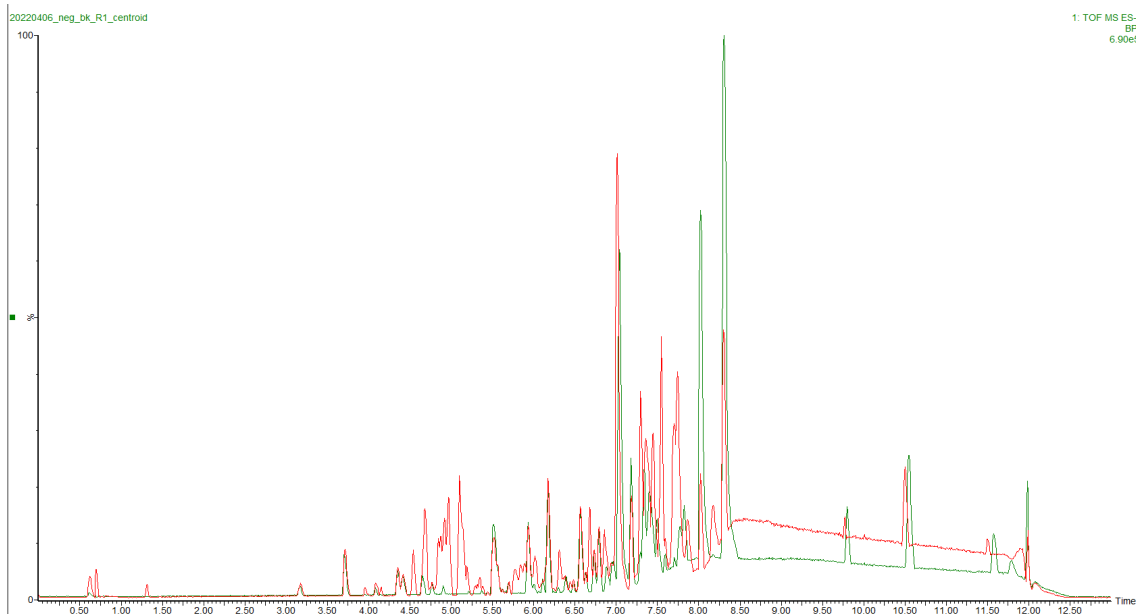


Figura 21. Comatograma de la muestra 16 (rojo) y blanco (verde)

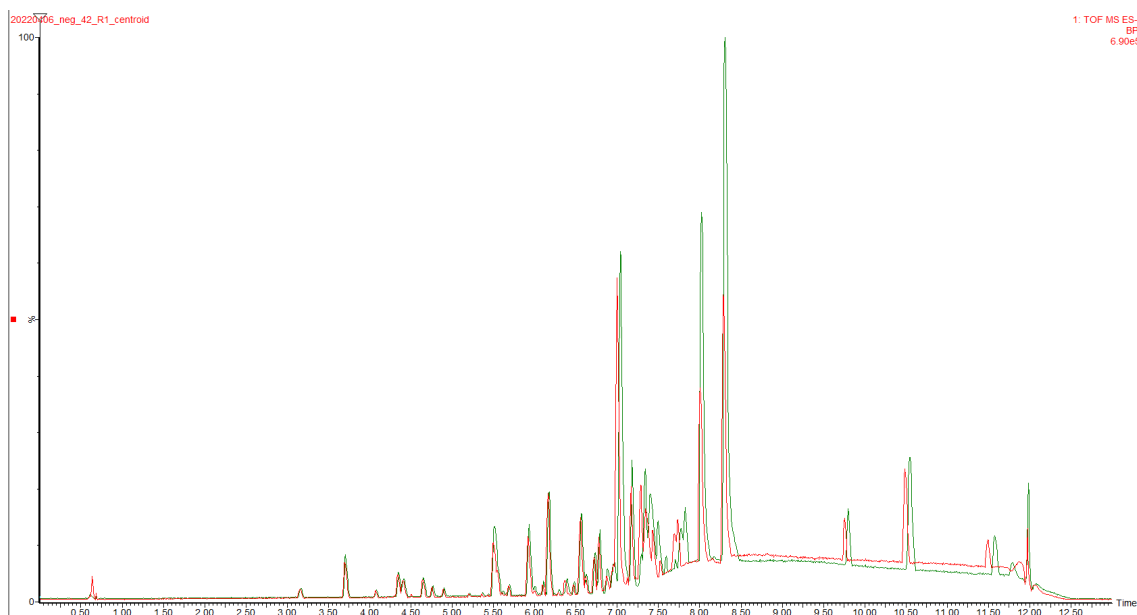


Figura 22. Comatograma de la muestra 17 (rojo) y blanco (verde)

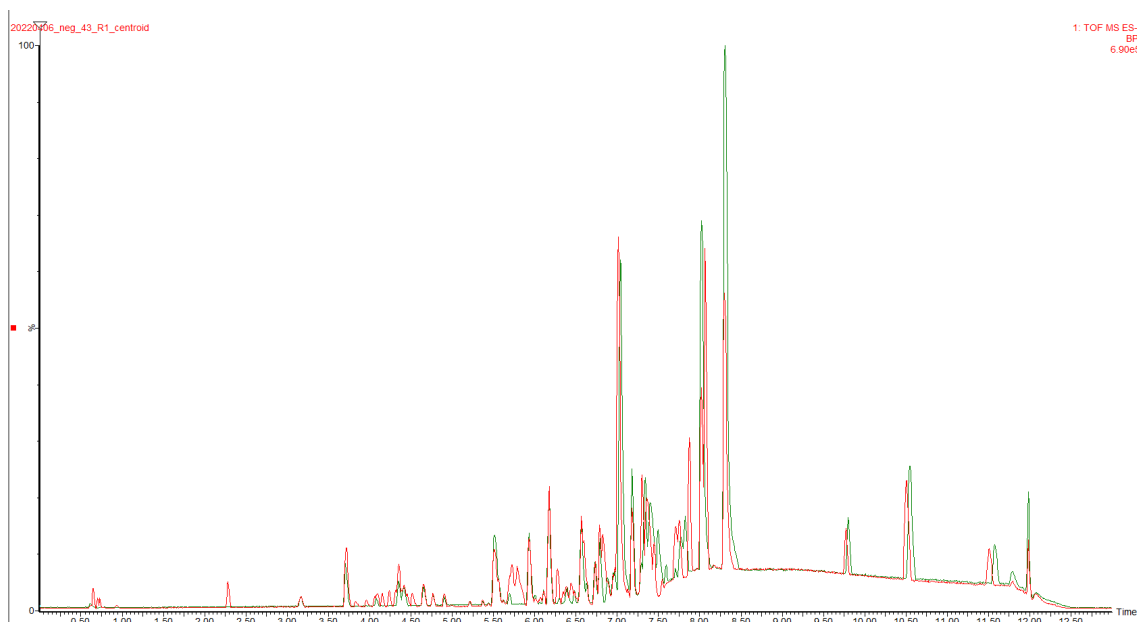


Figura 23. Comatograma de la muestra 18 (rojo) y blanco (verde)

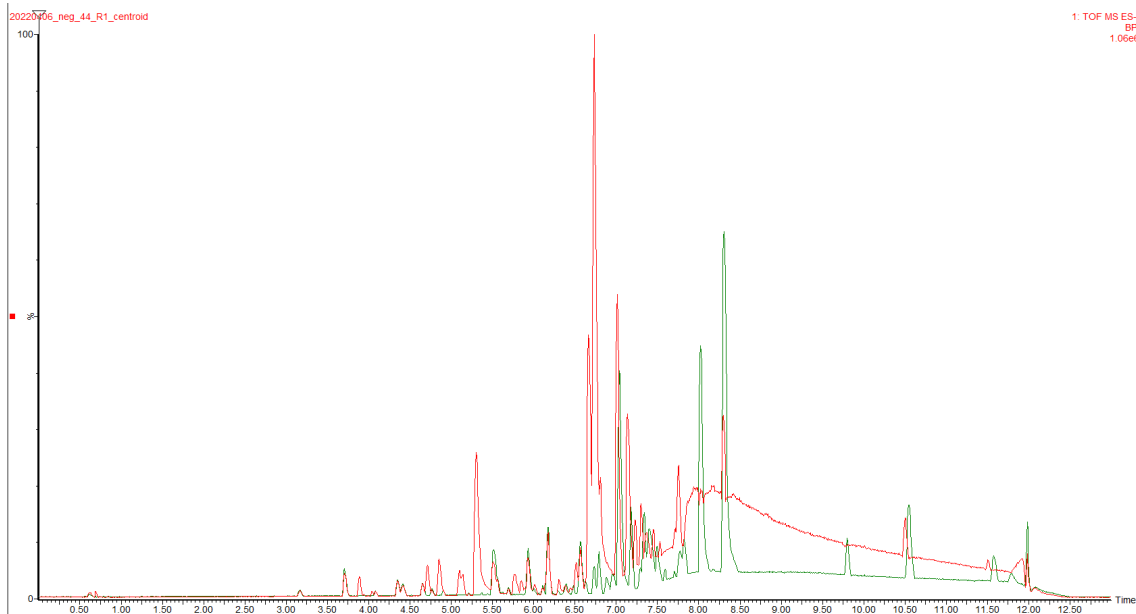


Figura 24. Comatograma de la muestra 19 (rojo) y blanco (verde)

ANEXO II

A continuación, se muestran los cromatogramas obtenidos en modo positivo (ESI+).

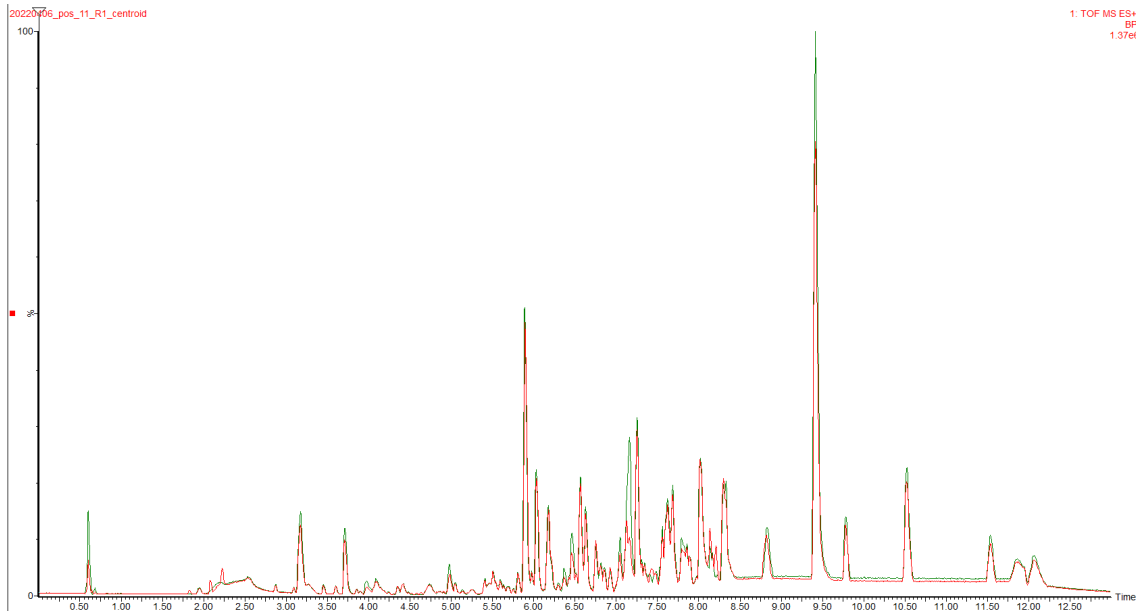


Figura 25. Comatograma de la muestra 1 (rojo) y blanco (verde)

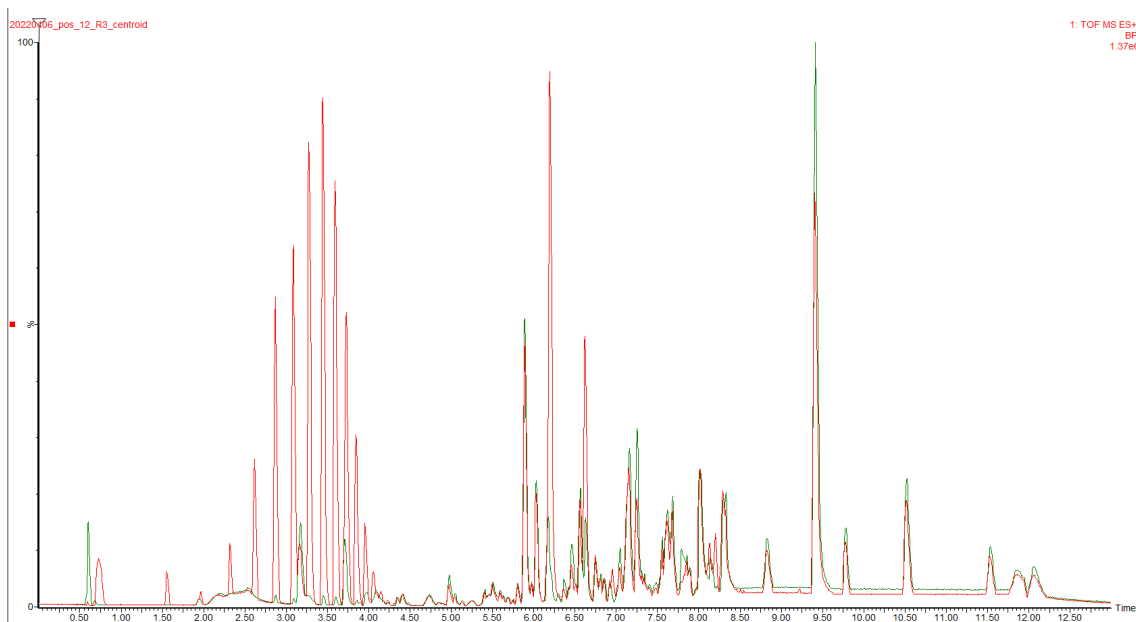


Figura 26. Comatograma de la muestra 2 (rojo) y blanco (verde)

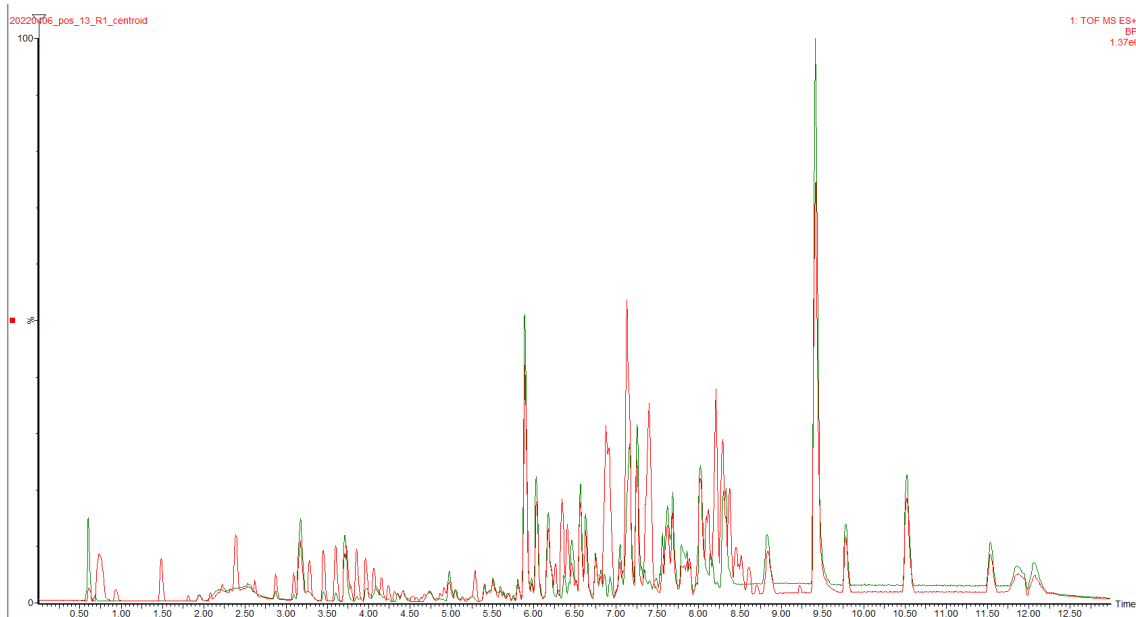


Figura 27. Comatograma de la muestra 3 (rojo) y blanco (verde)

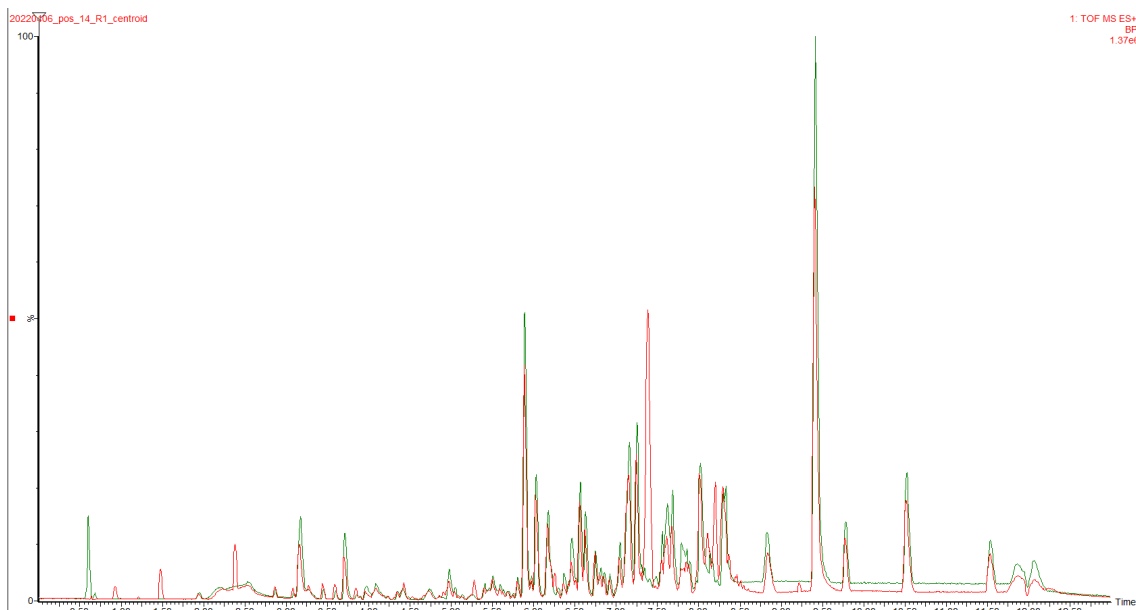


Figura 28. Comatograma de la muestra 4 (rojo) y blanco (verde)

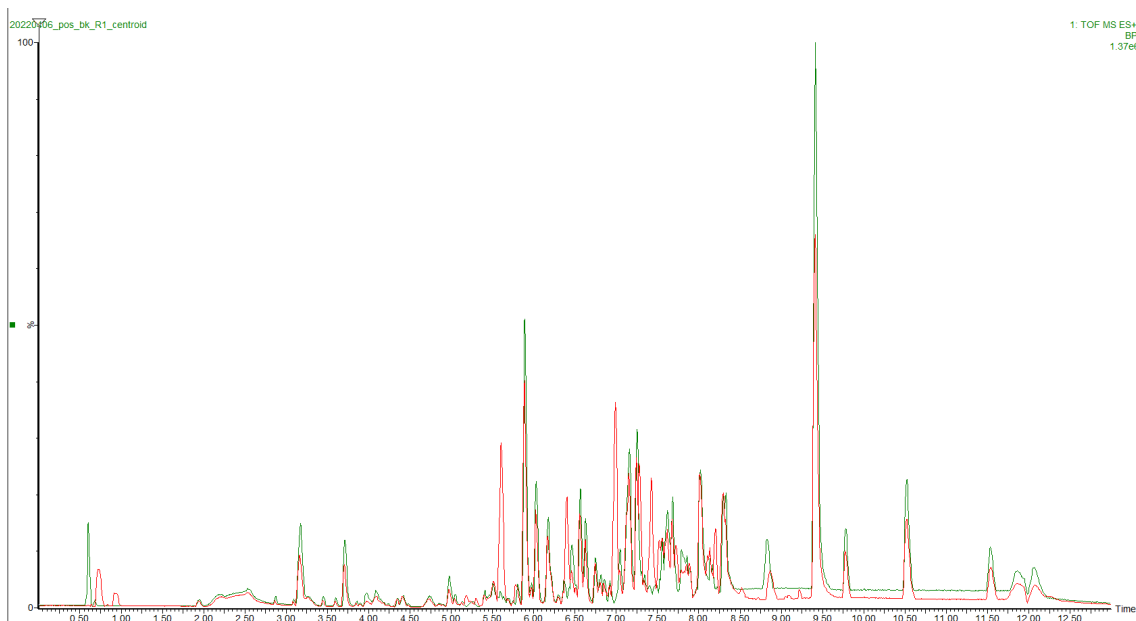


Figura 29. Comatograma de la muestra 5 (rojo) y blanco (verde)

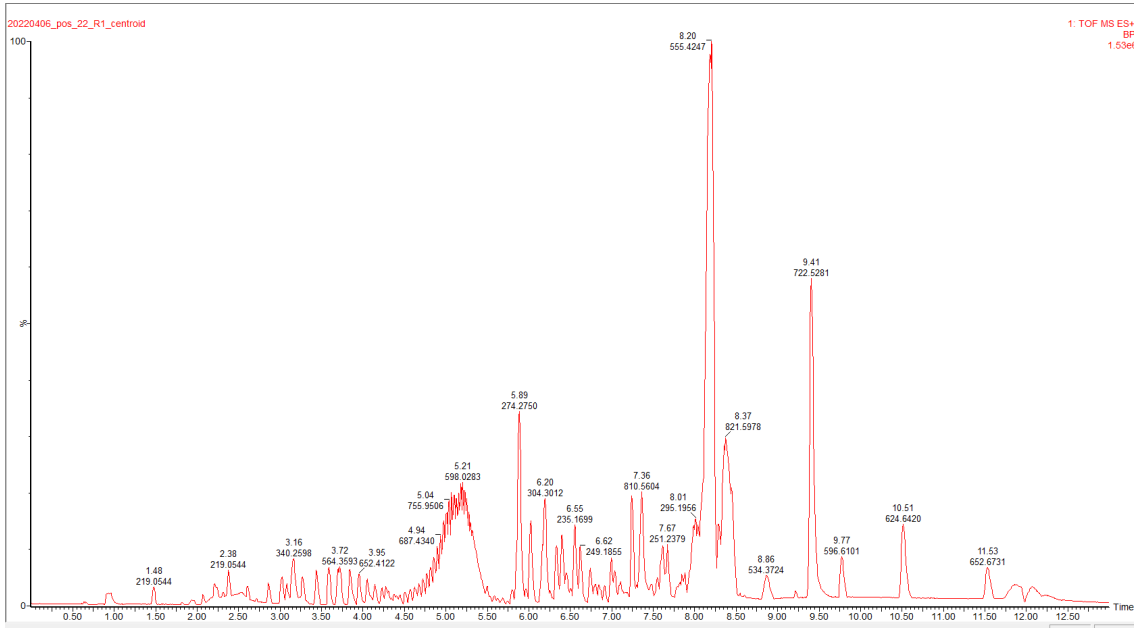


Figura 30. Comatograma de la muestra 6 (rojo)

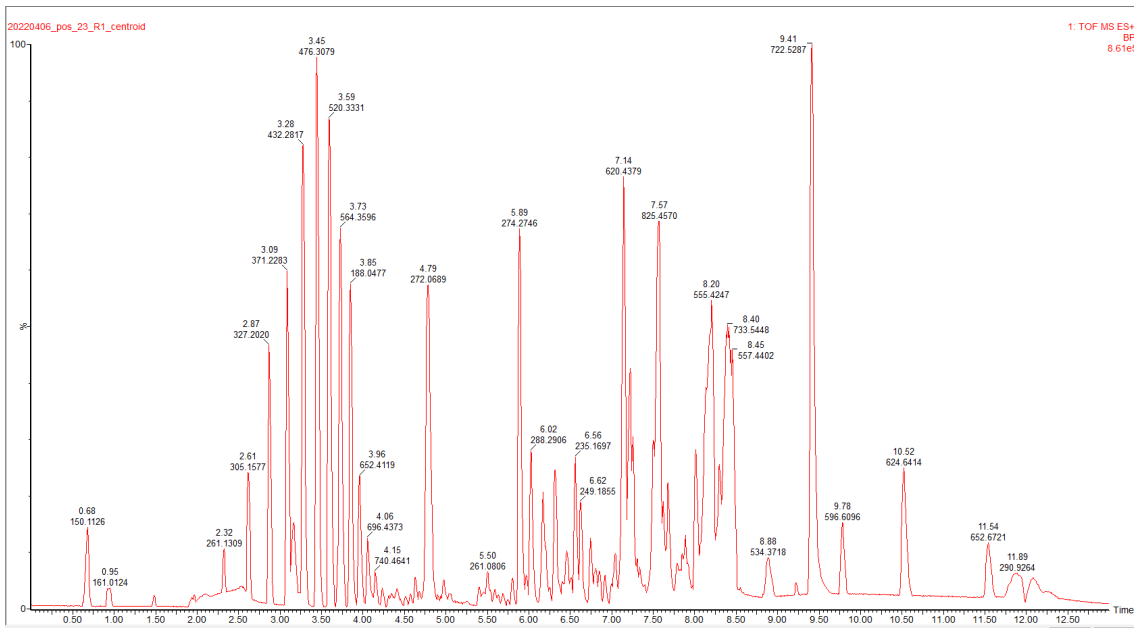


Figura 31. Comatograma de la muestra 7 (rojo)

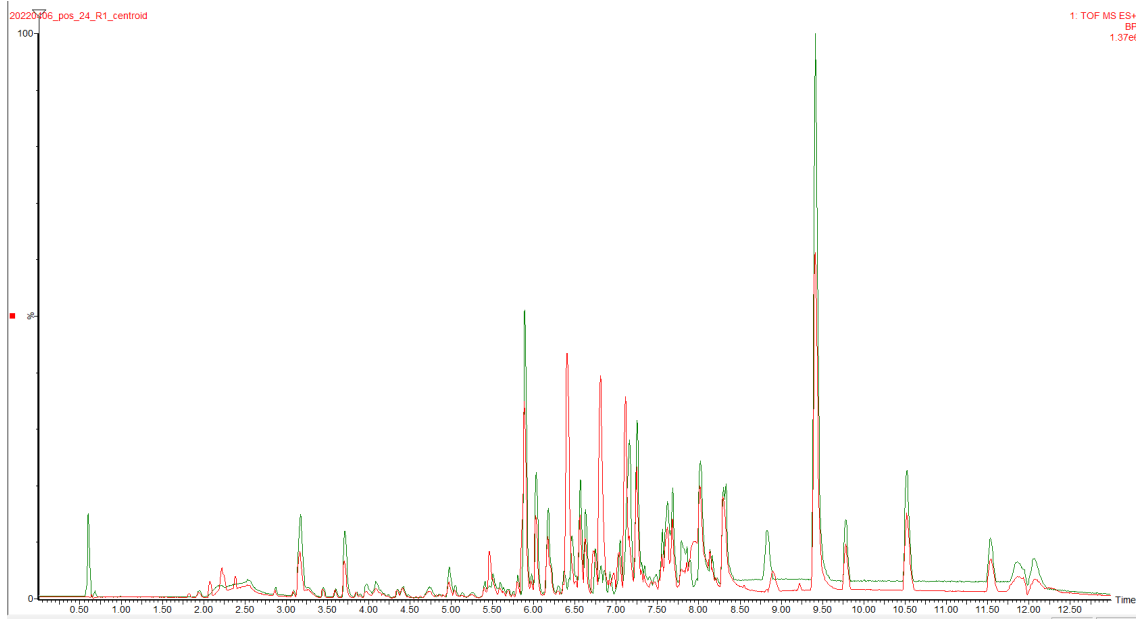


Figura 32. Comatograma de la muestra 8 (rojo) y blanco (verde)

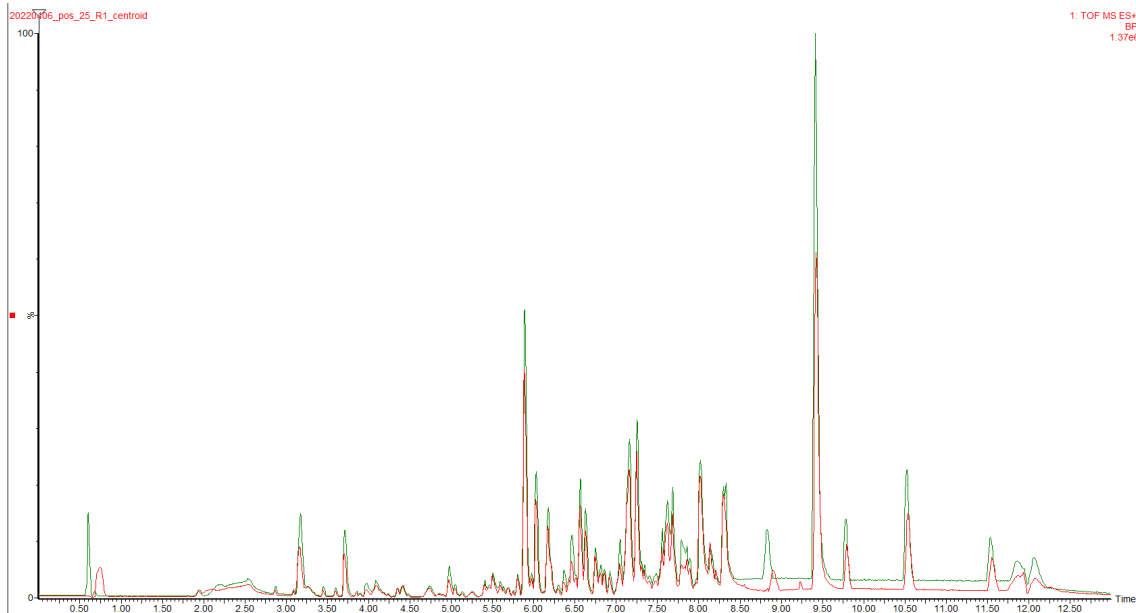


Figura 33. Comatograma de la muestra 9 (rojo) y blanco (verde)

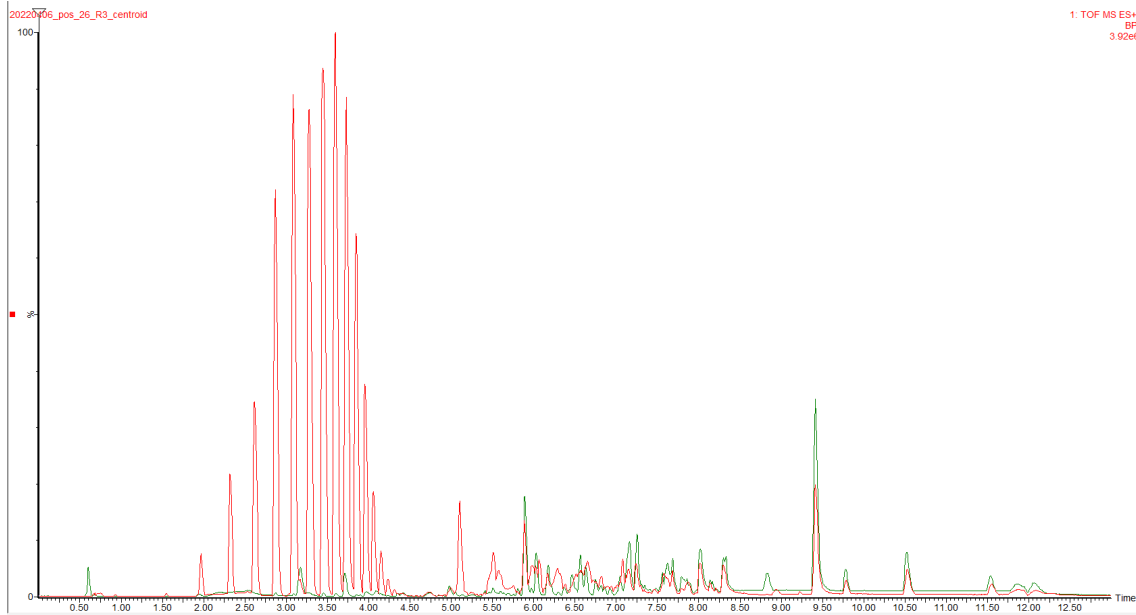


Figura 34. Comatograma de la muestra 10 (rojo) y blanco (verde)

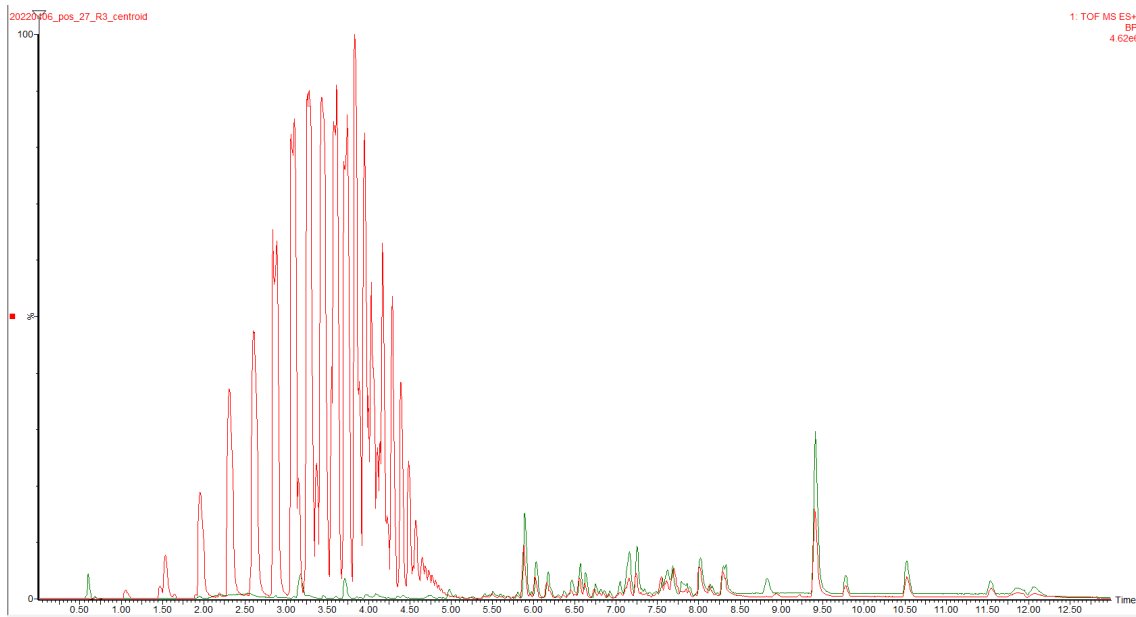


Figura 35. Comatograma de la muestra 11 (rojo) y blanco (verde)

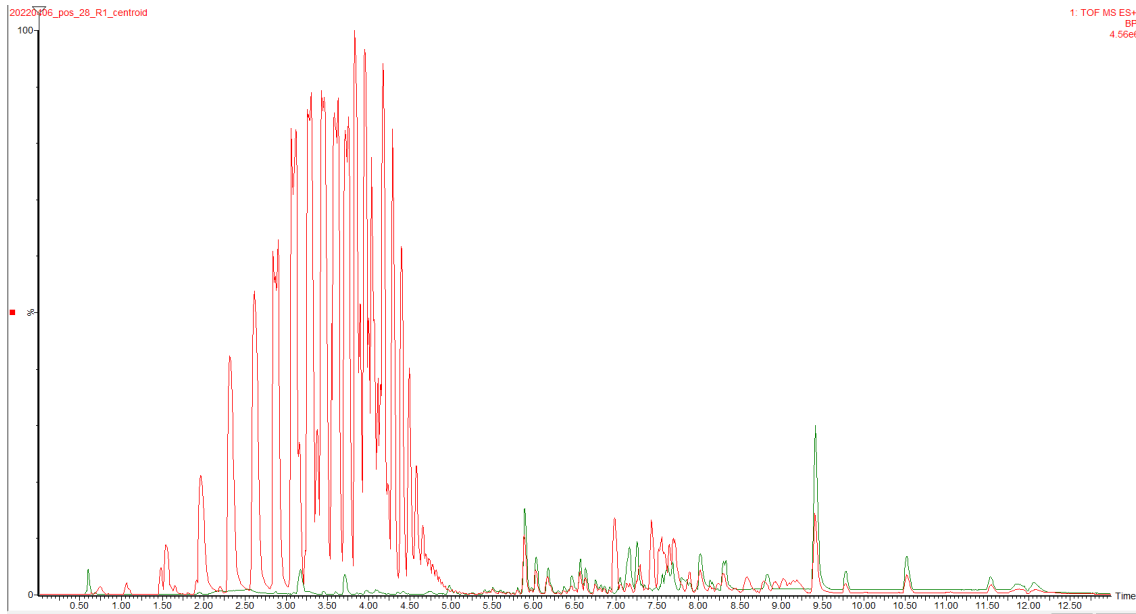


Figura 36. Comatograma de la muestra 12 (rojo) y blanco (verde)

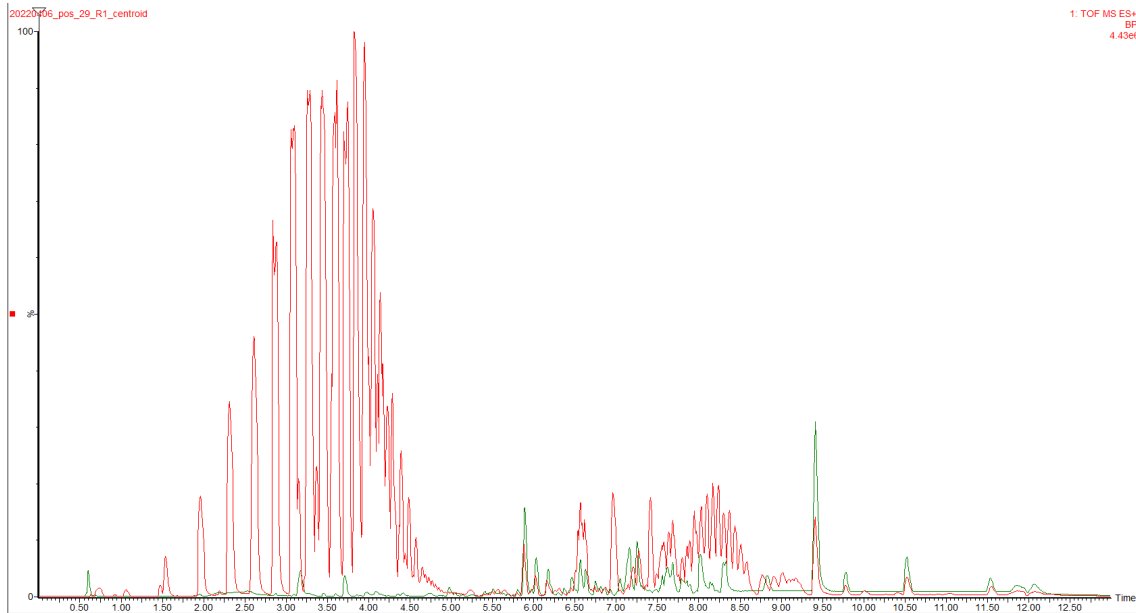


Figura 37. Comatograma de la muestra 13 (rojo) y blanco (verde)

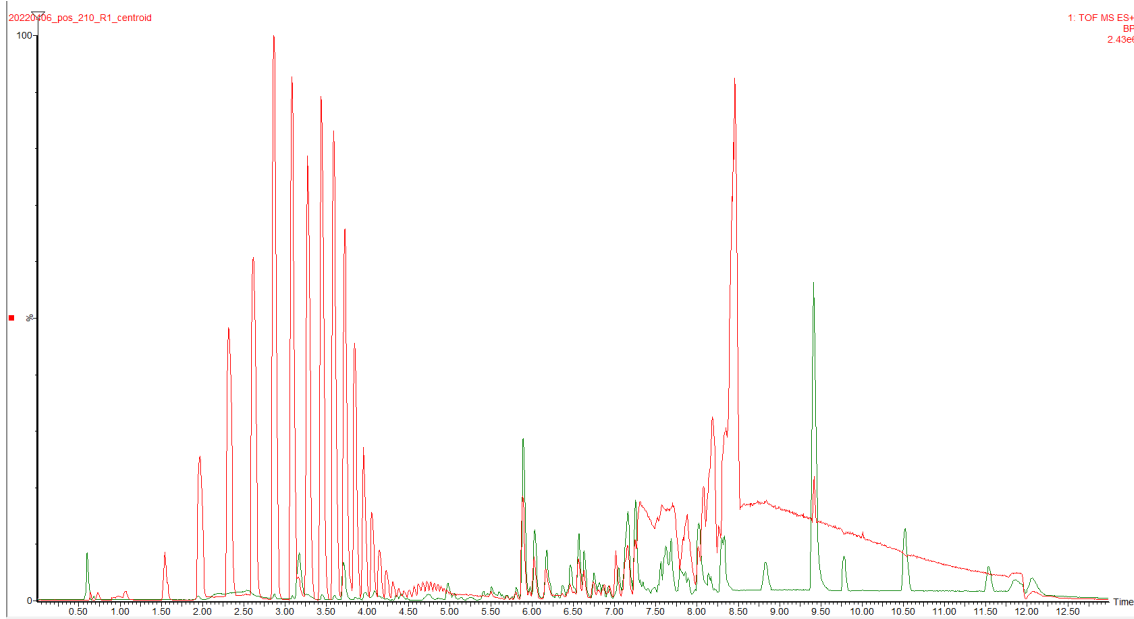


Figura 38. Comatograma de la muestra 14 (rojo) y blanco (verde)

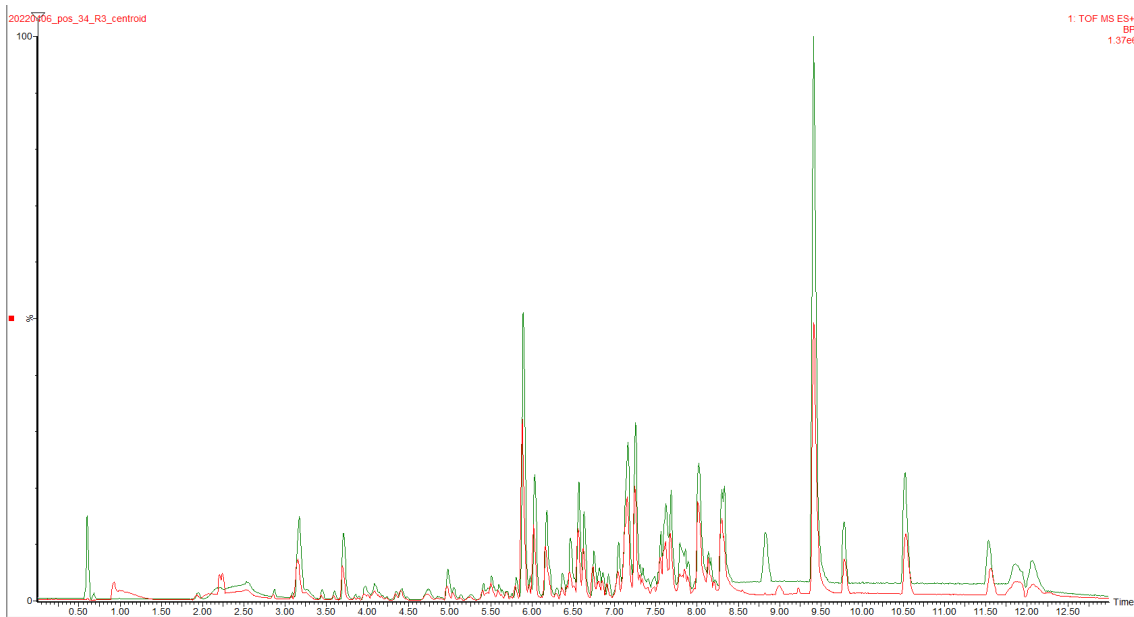


Figura 39. Comatograma de la muestra 15 (rojo) y blanco (verde)

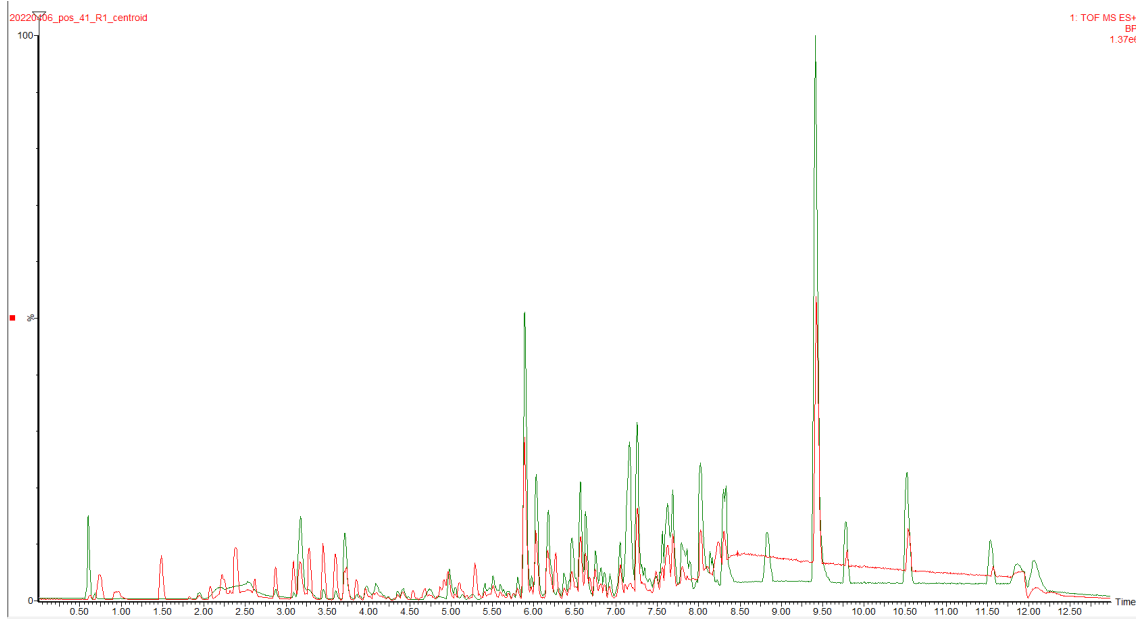


Figura 40. Comatograma de la muestra 16 (rojo) y blanco (verde)

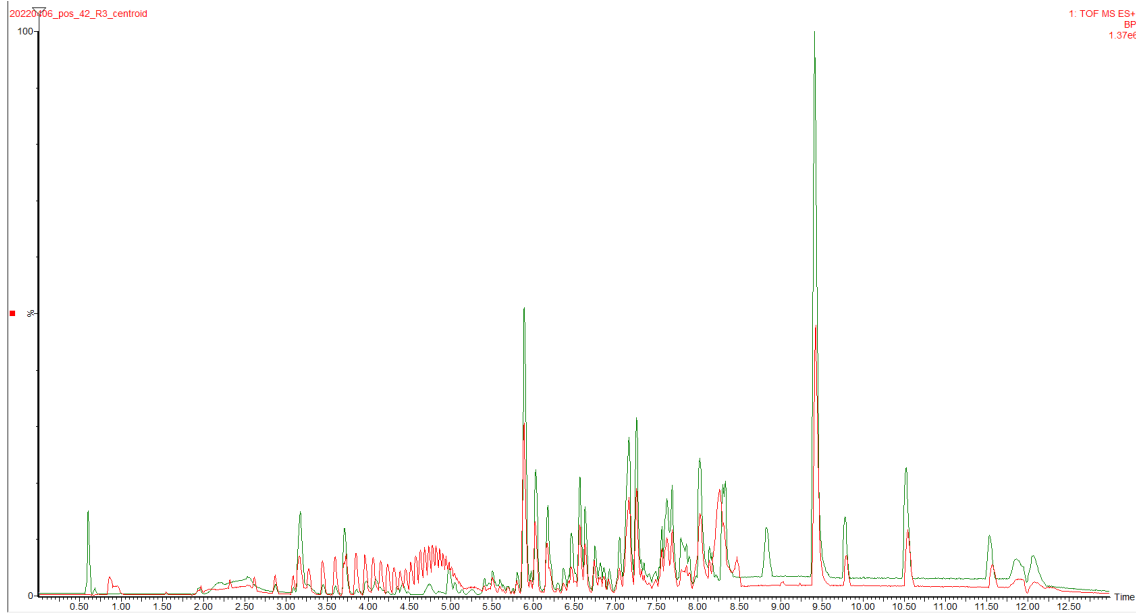


Figura 41. Comatograma de la muestra 17 (rojo) y blanco (verde)

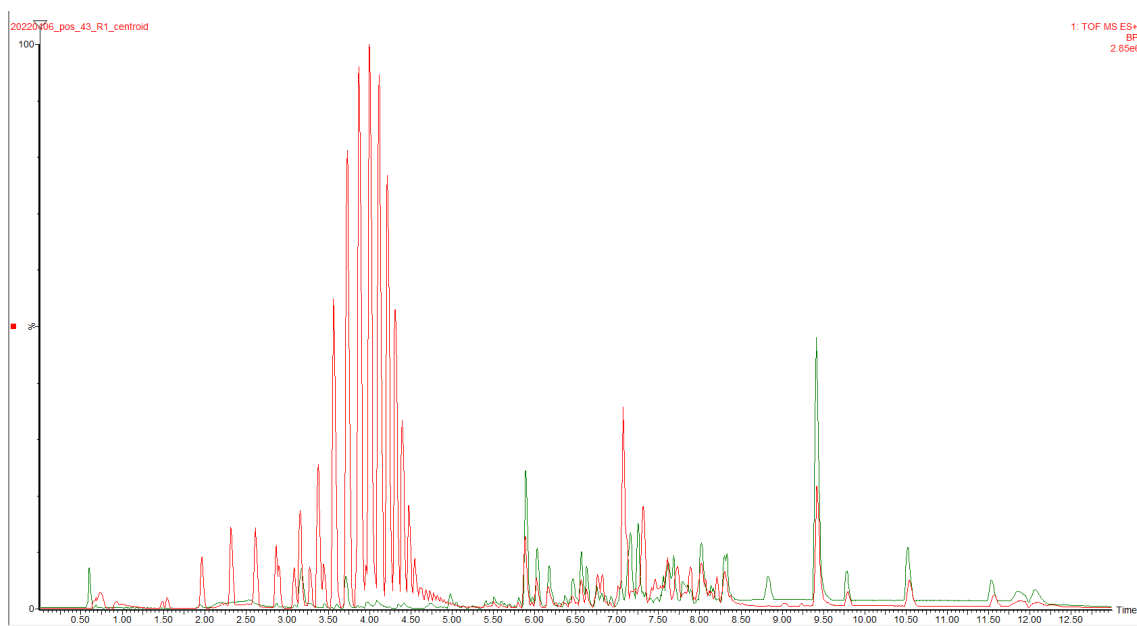


Figura 42. Comatograma de la muestra 18 (rojo) y blanco (verde)

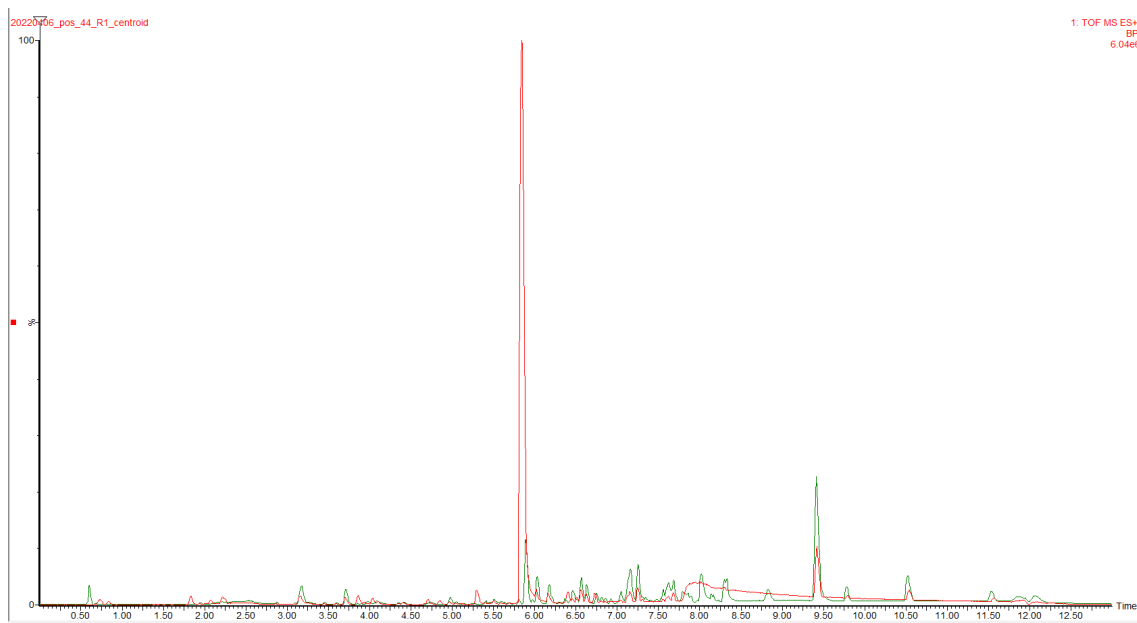


Figura 43. Comatograma de la muestra 19 (rojo) y blanco (verde)

ANEXO III

A continuación se muestran las curvas de calibrado obtenidas en ICP-MS.

Tabla 8. Valores de CPS obtenidos de Zn en las disoluciones estándar

conc. ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	count/CPS
0	3,60E+04
10,1	4,11E+04
20,2	5,15E+04
50,4	8,70E+04
100	1,41E+05

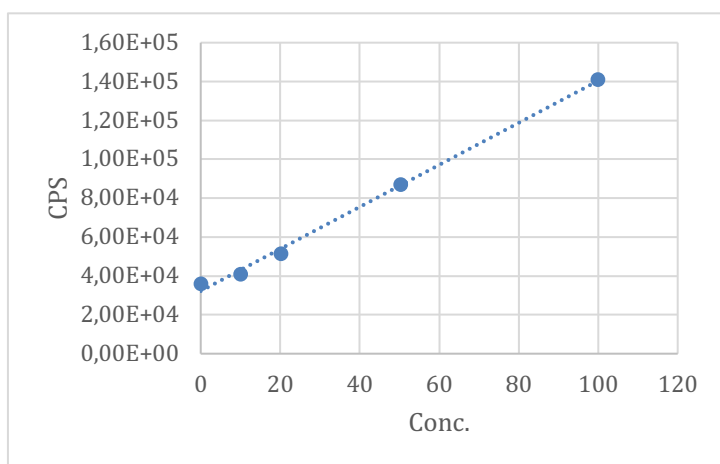


Figura 44. Recta de calibrado de Zn

Tabla 9. Valores de CPS obtenidos de Cu en las disoluciones estándar

conc. ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	count/CPS
0	1650
1	4260
5	1,36E+04
10	2,50E+04
20	5,03E+04
50	1,03E+05

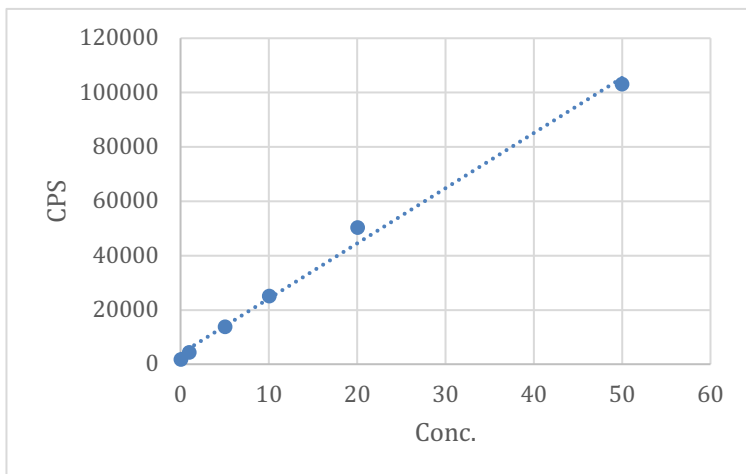


Figura 45. Recta de calibrado de Cu

Tabla 10. Valores de CPS obtenidos de Ti en las disoluciones estándar

conc. ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	count/CPS
0	2520
5	1,63E+04
10	2,72E+04
20	5,15E+04
50	1,00E+05
100	2,45E+05

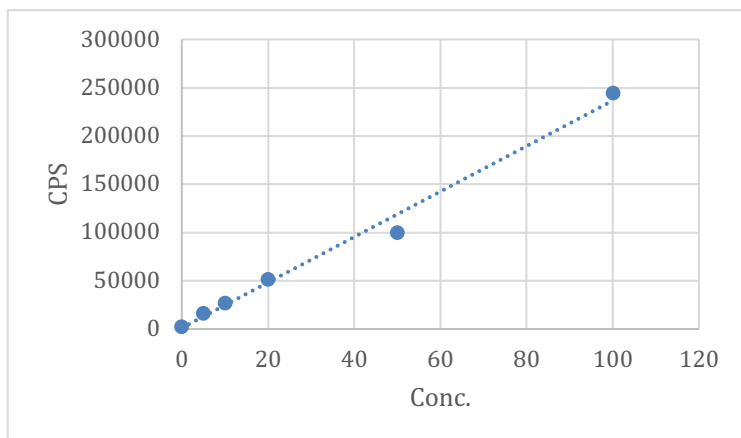


Figura 46. Recta de calibrado de Ti

Tabla 11. Valores de CPS obtenidos de Al en las disoluciones estándar

conc.($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	count/CPS
0	1,07E+05
10	1,15E+05
20	1,60E+05
50	2,28E+05
100	4,98E+05

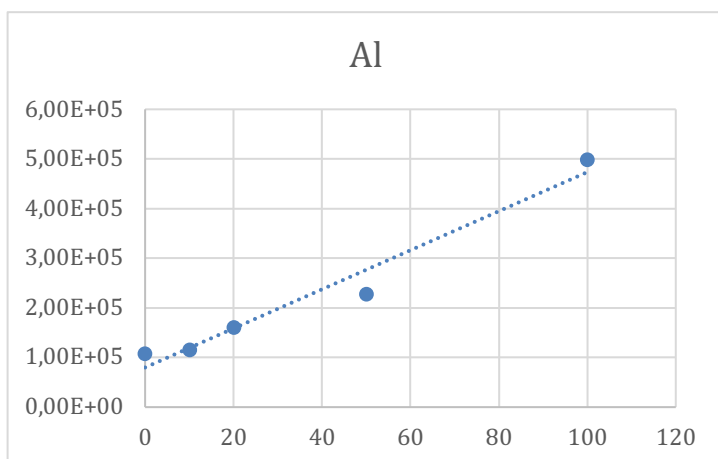


Figura 47. Recta de calibrado de Al

Tabla 12. Valores de CPS obtenidos de Mo en las disoluciones estándar

conc.($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	count/CPS
0	335
1,01	1250
5,04	4710
10,1	8730
20,2	1,82E+04
50,4	3,66E+04

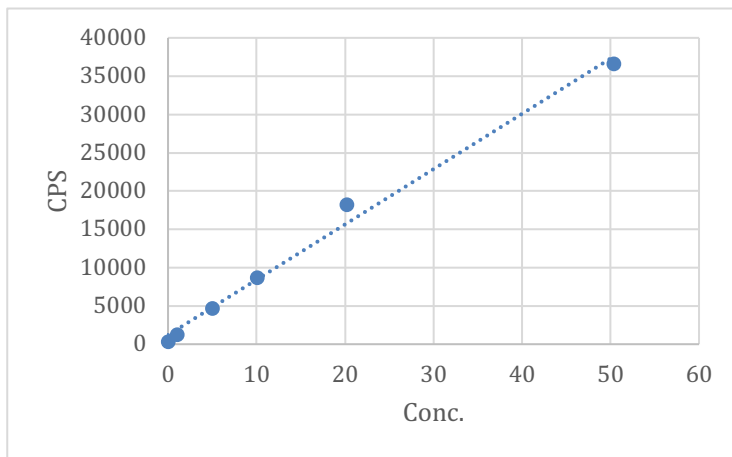


Figura 48. Recta de calibrado de Mo