Ispitivanje genotoksičnosti i citotoksičnosti fotopolimerske smole

Andrej Bartulin, 2. razred
Antonio Matej Gverić, 2. razred

III. gimnazija, Split
Mentor: *Vesna Dobronić*

SAŽETAK

Proizvodi nastali stereolitografijom korištenjem fotopolimerske smole postaju sve zastupljeniji, a o njihovoj toksičnosti nema dovoljno istraženih podataka. Cilj istraživanja je bio utvrditi učinak (toksičnost) tih proizvoda kroz različite faze procesa (ispis, ispiranje izopropilnim alkoholom, izlaganje UV svjetlu) koristeći *Allium cepa* test. Na lukovicama vrste *A. cepa* izloženih proizvodima nastalim stereolitografijom istraživana je duljina korjenčića, morfološke promjene korjenčića, mitotski indeks, udio stanica s interfaznim vakuolama te udio stanica s kromosomskim aberacijama (anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitoza, slijepljeni kromosomi). Rezultati su pokazali da neobrađena i poluobrađena smola uzrokuju inhibiciju rasta korjenčića. Jedino je neobrađena smola uzrokovala morfološke promjene na korjenčićima. Iako je zabilježen povećan mitotski indeks među svim tretmanima smolom, nije zabilježeno statistički značajno odstupanje. Zabilježeni povećani udio stanica s kromosomskim aberacijama u skupinama obrađene smole nije statistički značajno odstupao. Najveći udio stanica s interfaznim vakuolama u skupinama poluobrađene smole nije statistički značajno odstupao. Ovo istraživanje potvrđuje da neobrađena fotopolimerska smola pokazuje citotoksični i genotoksični utjecaj, dok poluobrađena smola pokazuje samo citotoksični utjecaj, a potpuno obrađena smola samo genotoksični utjecaj.

Ključne riječi: *aditivna proizvodnja; fotopolimerska smola; Allium cepa test; mitotski indeks; mutacije*

UVOD

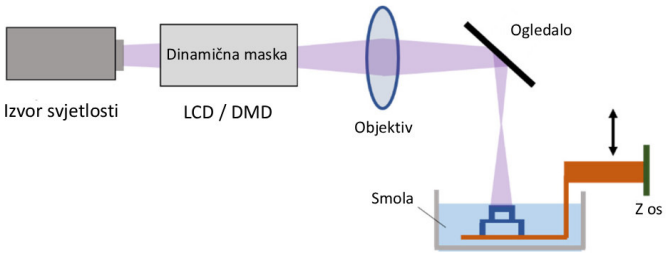
Zbog svoje visoke fleksibilnosti, mogućnosti proizvodnje kompleksnih geometrija, brzine izrade i biokompatibilnosti aditivna proizvodnja postaje sve zastupljenija, pogotovo u proizvodnji laganih strojeva, prototipiranju, arhitekturi, medicini i umjetnosti (Wong i Hernandez, 2012).

Aditivna proizvodnja je dio proizvodnog strojarstva koji se bavi izradom predmeta nanošenjem čestica u tankim slojevima (Hrvatska enciklopedija, 2013). 3D model u CAD (engl. *Computer Aided Design*) formatu datoteke se pretvara u format koji predstavlja mrežu trokuta (Wong i Hernandez, 2012). U procesu pretvorbe kontinuirane površine se aproksimiraju mrežom trokuta. Zatim, datoteka se pretvara u format za rezanje (engl. *slicing*) koji sadržava sve potrebne upute stroju i dijeli objekt u slojeve (engl. *layers*) (Satyanarayana i Prakash, 2015).

Od sedam metoda aditivne proizvodnje, najzastupljenije su taložno srašćivanje (engl. *Fused Deposition Modeling*) i stereolitografija (Zhang i sur., 2022). Stereolitografija je tehnika aditivne proizvodnje koja izrađuje 3D objekte selektivnim skrućivanjem smole putem fotopolimerizacije pokrenute apsorpcijom svjetlosti. Jedna od glavnih prednosti stereolitografije je visoka preciznost ispisa. Trenutno postoje četiri vrste stereolitografije: stereolitografija laserskog skeniranja, projekcijska, kontinuirana i volumetrična stereolitografija. Kod projekcijske stereolitografije UV svjetlost iz izvora prolazi kroz LCD (engl. *Liquid Crystal Display*) ili DMD (engl. *Digital Micromirror Device*) zaslon, koji djeluje kao dinamična maska i oblikuje presjek pojedinog sloja 3D modela. Oblikovana svjetlost se putem leća i ogledala usmjerava na površinu fotopolimerske smole u spremniku, gdje dolazi do očvršćivanja osvijetljenih područja (slika 1). Nakon polimerizacije sloja, platforma za ispis pomiče se za debljinu

Autori zadržavaju autorska prava te časopisu daju pravo prvog objavljivanja rada u skladu s licencijom CC BY 4.0, koja dopušta drugima dijeljenje rada uz navođenje autorstva i izvornog mjesta objavljivanja rada u časopisu.

sloja, omogućujući formiranje sljedećeg sloja. Postupak se ponavlja dok se ne izradi cijeli objekt. (Huang i sur., 2020).



Slika 1 Shematski prikaz projekcijske stereolitografije
Autor: Huang i sur., 2020

Fotopolimerska smola se sastoji od: monomera, oligomera, fotoincijalizatora i aditiva. Monomeri i oligomeri, čiji se tekući sastav kreće oko 40 %, se fotopolimerizacijom spajaju u polimere čime se smola stvrdnjava. Metakrilati i akrilati su jedna od najčešće korištenih skupina za monomere i oligomere. 10 % otpada na fotoincijalizatore, koji primanjem UV ili vidljive svjetlosti (obično do 420 nm) otpuštaju slobodne radikale ili katione čime dolazi do križne polimerizacije. Ostatak otpada na vezivna sredstva te aditive koji poboljšavaju mehanička svojstva i mijenjaju boju (Baguley i sur., 2025).

Dosadašnja istraživanja, kojih je malo, ukazuju na toksičnost fotopolimerskih smola. Kreß i sur. (2020) utvrdili su da je većina komercijalnih smola za stereolitografiju citotoksična za mezenhimalne matične stanice, uključujući i one s certifikatom biokompatibilnosti. Štetni učinci se, međutim, mogu uspješno spriječiti premazivanjem ispisanih predmeta parilenom. Brooks i Yadavalli (2025) su pokazali da dvostruko ispiranje izopropilnim alkoholom učinkovito smanjuje citotoksičnost smole. Macdonald i sur. (2016) u svojoj su studiji utvrdili da su komercijalne smole djelovale toksično na embrije zebrica, ali se njihova toksičnost može značajno smanjiti postprocesnim fazama.

Istraživanja su također pokazala povišene koncetracije hlapljivih organskih spojeva (engl. *Volatile Organic Compounds*, VOC) te da su koncetracije u postprocesnim fazama, ispiranje izopropilnim alkoholom i izlaganje UV svjetlu više u odnosu na fazu samog ispisa (Baguley i sur., 2025). Zbog manjka istraživanja na temu VOC spojeva prouzrokovanim stereolitografijom i njihovog utjecaja na zdravlje ljudi i okolinu, preporučuje se oprez, nošenje zaštitne maske, rukavica te dobra ventilacija prostora (Zhang i sur., 2022).

Allium cepa L., odnosno crveni luk, je dvogodišnja zeljasta biljka iz porodice sunovrata (Amaryllidaceae). Podrijetlom je iz zapadne Azije (Umeljić, 2004). Među biljnim vrstama, *A. cepa* je korišten za procjenu kromosomskih aberacija i poremećaja u mitotskom ciklusu. Danas se koristi za procjenu velikog broja genotoksičnih/antigenotoksičnih agenasa, što pridonosi sve većoj primjeni u praćenju stanja okoliša (Khanna i Sharma, 2013). Ovaj organizam je dobar bioindikator za procjenu potencijalne štete, zahvaljujući visokoj osjetljivosti ne samo na kemikalije, već i na zračenje (Feretti i sur., 2007; Xavier i sur., 2021; Bolsunovsky i sur., 2022). *A. cepa* test dokazani je pokazatelj genotoksičnih učinaka na okoliš i ljudsko zdravlje, s odgovorom u rasponu od 71 % do 91 % dosljednosti sa stanicama sisavaca (Leme i Marin-Morales, 2009; Tedesco i Laughinghouse, 2012).

U *A. cepa* testu citotoksični i genotoksični učinci ispitivanih tvari procjenjuju se analizom makroskopskih i mikroskopskih parametara u meristemskim stanicama korijena. Citotoksičnost, svojstvo tvari da bude štetno i otrovno za neku stanicu, se određuje praćenjem duljine korjenčića, kao pokazatelja inhibicije rasta, mitotskog indeksa, koji odražava razinu mitotske aktivnosti, te pojavom interfaznih vakuola u meristemskim stanicama, koje upućuju na stanični stres i degenerativne promjene. Genotoksičnost, svojstvo tvari da naruši genetski materijal nekog organizma, se procjenjuje analizom udjela kromosomskih aberacija, koje uključuju strukturne i numeričke promjene kromosoma tijekom mitoza (Hrvatski opći leksikon, 2012; Fiskesjö, 1988).

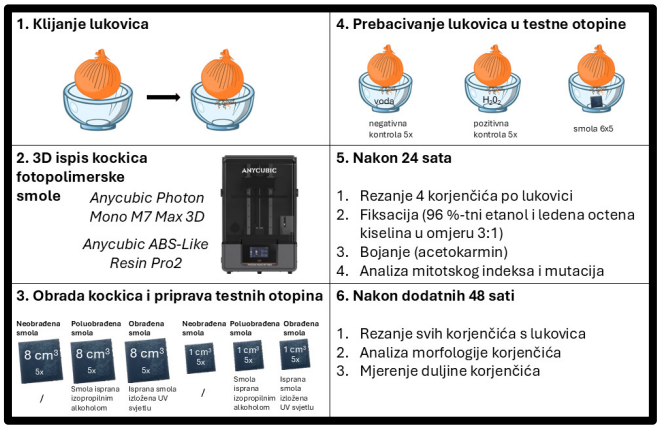
Cilj našeg istraživačkog rada je istražiti toksičnost gotovih proizvoda nastalih stereolitografijom na zdravlje ljudi i okoliš, uključujući toksičnost različitih faza procesa (ispis, ispiranje izopropilnim alkoholom, izlaganje UV svjetlu) kako bi se naglasila važnost pridržavanja i posljedice nepridržavanja uputa tijekom procesa.

Planiranim istraživanjem testirana je točnost sljedećih hipoteza:

- H1- Na korjenčićima luka izloženih fotopolimerskoj smoli bit će uočljive makroskopske promjene (smanjenje duljine korjenčića, promjena boje i oblika) u usporedbi s negativnom kontrolnom skupinom;
- H2- Meristemske stanice korjenčića luka izložene fotopolimerskoj smoli će imati manji mitotski indeks i povećan broj interfaznih vakuola u usporedbi s negativnom kontrolnom skupinom;
- H3- Na meristemskim stanicama korjenčića luka izloženih fotopolimerskoj smoli bit će izraženije mikroskopske promjene (kromosomske aberacije) u usporedbi s negativnom kontrolnom skupinom;
- H4- Najizraženije promjene na meristemskim stanicama korjenčića luka će izazvati neobrađena fotopolimerska smola, manje izražene smola isprana izopropilnim alkoholom, a najmanje izražene isprana smola izložena UV svjetlu u usporedbi s negativnom kontrolnom skupinom.

METODE RADA

U istraživanju je korišteno 40 lukovica *Allium cepa* L. kojima su skalpelom odstranjeni suhi korjenčići. Svaka je lukovica stavljena na vrh zasebne plastične čašice (volumena 360 mL) te bazom uronjena do pola flaširanom izvorskom vodom (*Cetina*). Lukovice su postavljene na tamno mjesto. Praćen je rast korjenčića dok nisu postigli duljinu od otprilike 2 cm (slika 2).



Slika 2 Shematski prikaz osnovnih koraka u ispitivanju genotoksičnosti i citotoksičnosti fotopolimerske smole

Petnaest kockica fotopolimerske smole volumena 1 cm^3 te petnaest kockica volumena 8 cm^3 (tablica 1) dizajniranih u programu SketchUp su isprintane na Anycubic Photon Mono M7 Max 3D pisaču koristeći Anycubic ABS-Like Resin Pro2 smolu. Ispis je obavljen u tvrtki Make Idea d.o.o. Nakon ispisa, sve kockice su obrisane ubrus papirom te podijeljene u šest skupina (tablica 1).

Tablica 1 Uzorci fotopolimerske smole korištenih u istraživanju i kontrole

Naziv i oznaka uzorka	Obrada uzorka	Kockica 1 cm^3 oznaka uzorka i broj	Kockica 8 cm^3 oznaka uzorka i broj
neobrađena smola V (1 i 2)	Bez daljnje obrade	**V1** - 5 kockica	**V2** - 5 kockica
poluobrađena smola A (1 i 2)	Isprano 95 %-tnim izopropilnim alkoholom	**A1** - 5 kockica	**A2** - 5 kockica
obrađena smola U (1 i 2)	Isprano 95 %-tnim izopropilnim alkoholom te izloženo pod UV svjetlom 5 minuta (V = 1 cm^3) ili 10 minuta (V = 8 cm^3) lampom AOREAM	**U1** - 5 kockica	**U2** - 5 kockica
(+) KONTROLA	Otopina H_2O_2 (300 mM), bez smole	/	/
(-) KONTROLA	Izvorska voda Cetina, bez smole	/	/

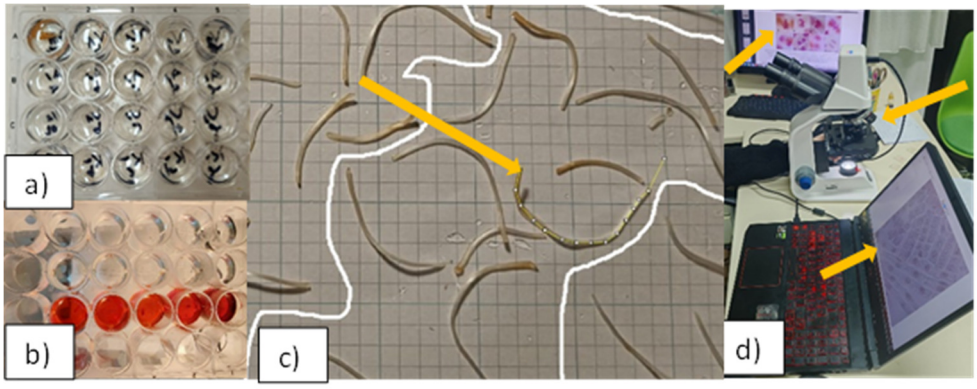
Za vrijeme obrade kockica i pripravljanja testnih otopina korištene su zaštitne rukavice i zaštitna maska.

Testne otopine pripremljene su dodavanjem svakog pojedinog uzorka u 100 mL destilirane vode. Zbog slabe topljivosti fotopolimerske smole, smjese su odstajale 24 sata uz povremeno miješanje kako bi se omogućila ekstrakcija zaostalih molekula. Kockice su ostale u testnim otopinama tijekom pokusa.

U svaku od 30 čašica s pripremljenim testnim otopinama prebačena je lukovica. Time je dobiveno 6 skupina (tablica 1) po 5 lukovica. 5 lukovica je prebačeno u čašice s izvorskom vodom kao negativnom kontrolom te 5 lukovica je prebačeno u čašice s 300 mM vodikovog peroksida kao pozitivnom kontrolom (Radić i sur. (2010) su se njime služili za genotoksičnost otpadnih voda). Ukupno 8 skupina po 5 lukovica.

Inhibicija rasta korjenčića luka praćena je nakon ukupno 72 sata izlaganja testnim otopinama. Duljina korjenčića (5 lukovica za pojedinu skupinu) izmjerena je u milimetrima (mm) u programu ImageJ nakon što su korjenčići odrezani pri bazi lukovice te je izračunata prosječna vrijednost duljine korjenčića po skupini.

Usporedno s mjerenjem rasta korjenčića, nakon 24 sata korjenčići su isprani pod tekućom vodom te su sa svake lukovice izrezana po četiri korjenčića za daljnju analizu, dok su preostali korjenčići na lukovicama nastavili rasti u testnim otopinama do isteka ukupnih 72 sata. Korjenčići su fiksirani u mješavini 96 %-tnog etanola i ledene octene kiseline u omjeru 3:1 (24 sata) kako bi se zaustavila dioba stanica. Nakon 24 sata fiksacije, korjenčići su izvađeni iz fiksativa i prebačeni u 70 %-tni etanol u kojem su čuvani na temperaturi od 4 °C do korištenja. Prije same analize korjenčići su omekšani u 1 M HCl (10 min), isprani destiliranom vodom te obojeni 1 %-tnom otopinom acetokarmina (20 min) (slika 3). Pri izradi preparata, otkinuti vršni dijelovi korjenčića (intezivno obojana zona primarnog meristema) stavljeni su na predmetno stakalce u kap aceto-karmina te macerirani staklenim štapićem. Macerirani korjenčići prekriveni su pokrovnicom i laganim pritiskom zgnječeni. Predmetna i pokrovna stakalca prethodno su očišćena u etanolu. Po dva vrška korjenčića sa svake lukovice korištena su za izradu jednog mikroskopskog preparata. Za mikroskopiranje i fotografiranje preparata korišten je digitalni binokularni mikroskop B-150D-BRPL s kamerom. Na svakom mikroskopskom preparatu prebrojano je 250 stanica, tj. 500 stanica po lukovici odnosno 2500 po tretmanu za kromosomske aberacije i mitotski indeks (slika 3).



Slika 3 Obrada materijala: a) fiksiranje korjenčića b) bojanje preparata c) mjerenje duljine korjenčića d) prebrojavanje stanica.

Autorl: Bartulin A. i Gverić A. M., 2025

Mitotski indeks izražava se kao omjer između broja stanica u mitozi i ukupnog broja stanica. Moguće ga je izračunati prema izrazu:

$$Mitotski\ indeks = \frac{(P+M+A+T)}{N} \times 100\ \%$$

u kojem je (P+M+A+T) suma svih stanica u profazi (P), metafazi (M), anafazi (A) i telofazi (T), a N je ukupan broj stanica. Stanice su brojane pregledom cijelog vidnog polja mikroskopa pri povećanju 400 puta, pomicanjem preparata s lijeva na desno, pazeći pritom da ne dolazi do dvostrukog brojanja (Vareško, 2017).

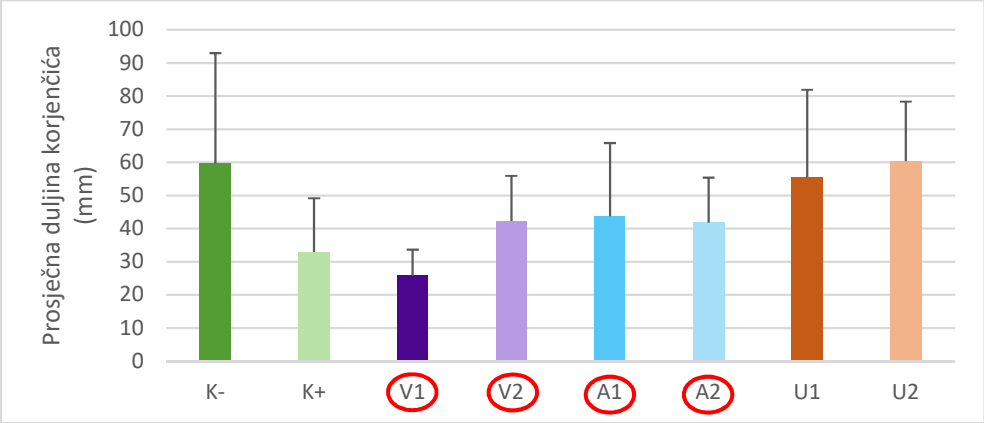
Praćene mutacije obuhvaćale su kromosomske aberacije poput anafaznih mostova, lomova kromosoma, c-mitoze i ljepljivih kromosoma te prisutnost interfaznih vakuola. Aberacije i interfazne vakuole detektirani su analizom mikroskopskih preparata, a rezultati su izraženi kao postotak kromosomskih aberacija u odnosu na broj stanica u diobi (najmanje 100 stanica u diobi po lukovici) te postotak stanica s interfaznim vakuolama u ukupnom broju analiziranih stanica (2500 po tretmanu).

Istraživanje je uključivalo procjenu postojanja statistički značajnih razlika u duljini korjenčića, mitotskom indeksu, broju kromosomskih aberacija i broju interfaznih vakuola između skupina iz Tablice 1 te skupina negativne i pozitivne kontrole. Za statističku analizu korištene su standardne devijacije radi procjene varijabilnosti podataka, dok je ANOVA test primijenjen za utvrđivanje značajnosti rezultata. Za dodatnu analizu razlika između različitih skupina, primijenjen je Tukey-Kramer HSD post-hoc test. Ukoliko je *p*-vrijednost manja od 0,05, rezultat se smatra statistički značajnim, što ukazuje na manje od 5 % vjerojatnosti da je rezultat slučajan. Za *p*-vrijednosti veće od 0,05 rezultati nisu smatrani statistički značajnima (Cvitković i Tabak, 2025; Grubišić i Medić, 2023).

REZULTATI

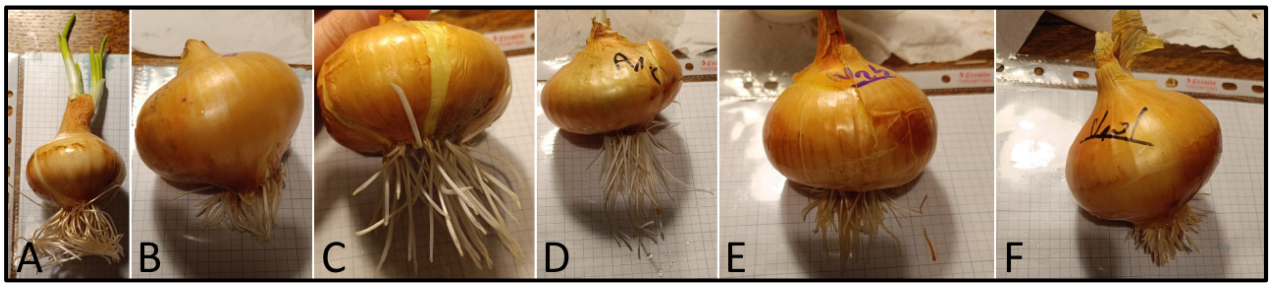
Prosječna duljina korjenčića

Slikom 4 prikazane su prosječne duljine korjenčića lukovica izmjerene nakon tretmana otopinama smole u trajanju od 72 sata. Zabilježeno je da su korjenčići lukovica koje su bile izložene otopinama neobrađene i poluobrađene smole imali manje duljine u odnosu na negativnu kontrolu i na potpuno obrađenu smolu, ali veću u odnosu na pozitivnu kontrolu. Statistička značajnost između svakog od parova tretmana prikazana je u prilogu 1.



Slika 3 Prosječna duljina korjenčića (mm) nakon 72 h tretmana: K- (voda), K+ (vodikov peroksid), V (neobrađena smola), A (smola isprana izopropilnim alkoholom), U (isprana smola izložena UV svjetlu); 1 (volumen 1 cm³), 2 (volumen 8 cm³). Statistički značajni rezultati označeni su crvenim krugovima. Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

Razlike u duljini i izgledu korjenčića u otopinama smole u odnosu na pozitivnu i negativnu kontrolu prikazane su slikom 5.



Slika 4: Usporedba duljine korjenčića i morfologije, A) K- – voda, B) K+ – vodikov peroksid, C) A2 – smola isprana izopropilnim alkoholom (8 cm³), D) A1 – smola isprana izopropilnim alkoholom (1 cm³), E) V2 – neobrađena smola (8 cm³), F) V1 – neobrađena smola (1 cm³)
Autor: Bartulin A., 2025

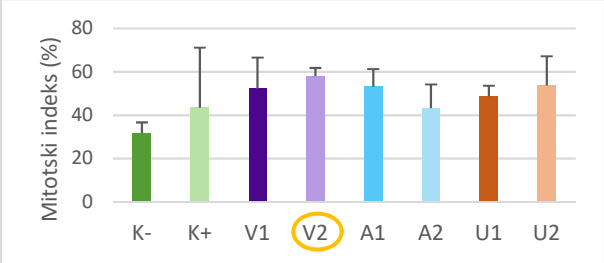
Neki korjenčići u tretmanima neobrađene smole pokazuju morfološke promjene u vidu stanjivanja te postaju sluzavi i prozirni (slika 6). Kod ostalih tretmana nisu uočene značajne promjene u morfologiji korjenčića.



Slika 5 Morfološke promjene na korjenčićima lukovice tretiranih neobrađenom smolom
Autor: Bartulin A., 2025

Mitotski indeks

Nakon prebrojavanja stanica na mikroskopskim preparatima utvrđen je dio stanica u mitozi u odnosu na ukupan broj stanica za različite tretmane te je izračunat mitotski indeks. Rezultati su prikazani slikom 7.

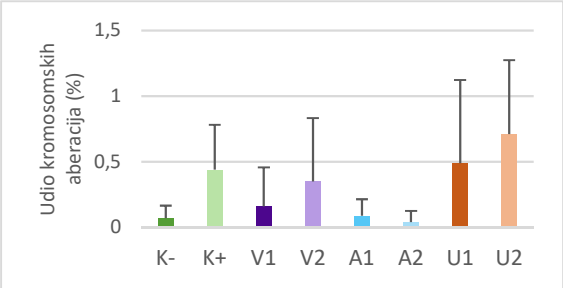


Slika 6: Mitotski indeks korjenčića nakon 24 h tretmana: K- (voda), K+ (vodikov peroksid), V (neobrađena smola), A (smola isprana izopropilnim alkoholom), U (isprana smola izložena UV svjetlu); 1 (volumen 1 cm^3), 2 (volumen 8 cm^3). Granično statistički značajan rezultat je označen narančastim krugom. Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

Svi tretmani smole imaju viši mitotski indeks u meristemskim stanicama u usporedbi s negativnom kontrolom i sličan u usporedbi s pozitivnom kontrolom. Granično statističko značajno odstupanje je zabilježeno između negativne kontrole i skupine V2 (p = 0,05442) (slika 7, prilog 1).

Kromosomske aberacije

Kromosomske aberacije (anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitoza, ljepljivi kromosomi) su prvo uočene pri povećanju mikroskopa 400×, a potom su promatrane pri povećanju 1000×. Rezultat je izražen kao udio stanica s mutacijama u odnosu na ukupan broj stanica (slika 8).

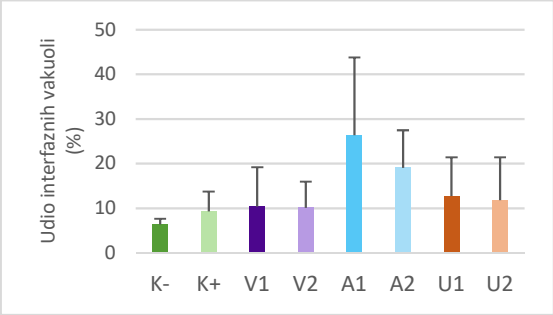


Slika 7: Udio kromosomskih aberacija izražen u postotcima: K- (voda), K+ (vodikov peroksid), V (neobrađena smola), A (smola isprana izopropilnim alkoholom), U (isprana smola izložena UV svjetlu); 1 (volumen 1 cm^3), 2 (volumen 8 cm^3). Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

Najmanje kromosomskih aberacija je zabilježeno u tretmanima poluobrađene smole. Najviše kromosomskih aberacija je zabilježeno u tretmanima obrađene smole, dok je u tretmanima neobrađene smole zabilježeno više kromosomskih aberacija u odnosu na tretmane poluobrađene smole, ali manje u odnosu na tretmane obrađene smole. Iako su zabilježene razlike u kromosomskim aberacijama, nije zabilježeno statistički značajno odstupanje.

Interfazne vakuole

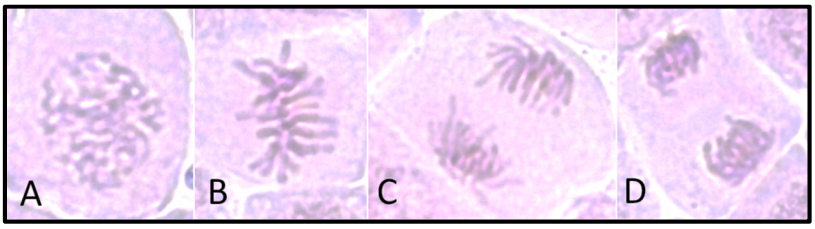
Interfazne vakuole su prvo uočene pri povećanju mikroskopa 400×, a potom su promatrane pri povećanju 1000×. Rezultat je izražen kao udio stanica s interfaznim vakuolama u odnosu na ukupan broj stanica (slika 9).



Slika 8: Udio interfaznih vakuola izražen u postotcima: K- (voda), K+ (vodikov peroksid), V (neobrađena smola), A (smola isprana izopropilnim alkoholom), U (isprana smola izložena UV svjetlu); 1 (volumen 1 cm^3), 2 (volumen 8 cm^3). Standardne devijacije su prikazane stupićima pogreške.

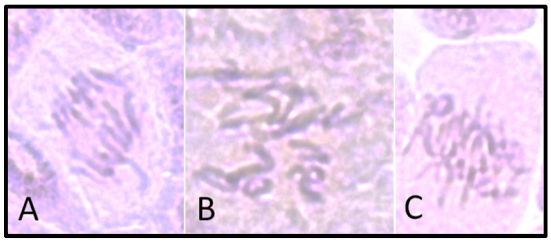
Najveći udio interfaznih vakuola je zabilježen u tretmanima poluobrađene smole. U ostalim tretmanima, zabilježen je sličan udio interfaznih vakuola u odnosu na kontrolne skupine. Nisu zabilježena statistički značajna odstupanja.

Fotografije tijeka mitotičke diobe uočenim u uzorcima prikazan je slikom 10.



Slika 9: Normalne faze diobe u uzorkovanim stanicama *A. cepa* L., A - profaza, B - metafaza, C - anafaza, D – telofaza (povećanje 400×).
Autor: Bartulin A., 2025

Mutacije uočene u uzorcima stanica *A. cepa* prikazane su na slici 11.



Slika 10: Mutacije u stanicama *A. cepa* L., A – anafazni most, fragmentirani kromosom, B – c-mitoza, C – slijepljeni kromosomi (povećanje 400×).
Autor: Gverić A. M., 2025

RASPRAVA

Cilj ovog istraživačkog projekta je bio utvrditi toksičnost fotopolimerske smole nakon 3D ispisa te utjecaj različitih faza obrade fotopolimerske smole. Motivacija za odabranu temu je sve veća zastupljenost aditivne proizvodnje, pogotovo u tehničkim i medicinskim strukama. Istraženost toksičnosti fotopolimerske smole još je uvijek relativno ograničena i nedostatna, osobito kada je riječ o dugoročnim učincima na zdravlje ljudi i okoliš. Većina dostupnih podataka temelji se na kratkoročnim ispitivanjima ili informacijama proizvođača, dok neovisnih i sustavnih studija ima vrlo malo.

Različiti tretmani smole rezultirali su u varijacijama u duljini korjenčića. Zabilježena su statistički značajna odstupanja (prilog 1). Prosječne duljine korjenčića 59,6 mm (slika 4) u negativnoj kontroli bile

su više od duljina izmjerenih u istraživačkom radu Vareško (2017) (oko 40 mm), Radić i sur. (2010) (53 mm) i Grubišić i Medić (2023) (10 mm). Prosječne duljine korjenčića u pozitivnoj kontroli (32,9 mm) također su veće u odnosu na one u istraživačkom radu Vareško (2017) (17 mm). Za razliku od rezultata u istraživačkom radu Grubišić i Medić (2023) gdje su testne otopine troske ubrzale rast korjenčića, testne otopine neobrađene i poluobrađene smole inhibirale su rast korjenčića luka. Obrađena smola je imala neutralan utjecaj na rast korjenčića luka u usporedbi s negativnom kontrolom. Također su zabilježene makroskopske promjene na nekim korjenčićima iz tretmana neobrađene smole u vidu stanjivanja te promjene boje. Time je potvrđena hipoteza 1.

Očekivano je da će meristemske stanice korjenčića izloženih smoli imati manji mitotski indeks u usporedbi s kontrolnom skupinom (hipoteza 2), što nije potvrđeno za nijednu skupinu (slika 7). Najveći mitotski indeks imala je skupina V2 koja je ujedno i granično statistički značajna ($p = 0,05442$). Kod ostalih skupina nije zabilježeno statistički značajno odstupanje u odnosu na negativnu kontrolu, ali je vrijednost mitotskog indeksa bila veća. Mitotski indeks u negativnoj kontroli (31,73 %) što je u skladu u rasponu što ga daju Sutan (2014) (13 %) i Sreeranjini i Siril (2011) (35 %). Mitotski indeks u pozitivnoj kontroli (43,39 %) je viši u odnosu na mitotski indeks u istraživačkom radu Vareško (2017) i Grubišić i Medić (2023). Hipotezom 4 bilo je očekivano da će najveće promjene u odnosu na negativnu kontrolu biti kod tretmana neobrađene smole, zatim kod tretmana poluobrađene smole, a najmanje promjene kod tretmana obrađene smole, što nije potvrđeno. Hipotezom 2 i 4 je također bio očekivan veći udio interfaznih vakuoli u odnosu na negativnu kontrolu, što nije potvrđeno. Najveći udio interfaznih vakuoli je zabilježen kod tretmana poluobrađene smole, zatim kod tretmana obrađene smole, a najmanji kod tretmana neobrađene smole. Nisu zabilježena statistički značajna odstupanja među niti jednom skupinom. Udio interfaznih vakuoli (6,38 %) u negativnoj kontroli je u razini s rezultatima u istraživačkom radu Vareško (2017) te Grubišić i Medić (2023). Udio interfaznih vakuoli (9,3 %) u pozitivnoj kontroli je manji u odnosu na istraživački rad Vareško (2017) te Grubišić i Medić (2023). Razlike mitotskog indeksa i udjela interfaznih vakuola među različitim istraživačkim radovima moguće proizlaze iz činjenice da su korištene lukovice različite starosti i različita dobavljača.

Hipotezom 3 i 4 bio je očekivan najveći udio kromosomskih aberacija kod tretmana neobrađene smole, zatim kod tretmana poluobrađene smole, a najmanji kod tretmana obrađene smole, što nije potvrđeno (slika 8). Najveći udio kromosomskih aberacija je zabilježen kod tretmana obrađene smole (U1 - 0,49 %, U2 – 0,71 %), zatim kod tretmana neobrađene smole (V1 – 0,16 % , V2 – 0,35 %), a najmanji kod tretmana poluobrađene smole (A1 – 0,09 %, A2- 0,04 %). Najčešća mutacija je bila c-mitoza. C-mitoza (slika 11) je mutacija u mitozi prepoznata po maksimalno kondenziranim kromosomima koji su porazbacani po stanici i nastaju kao posljedica štetnog djelovanja na diobeno vreteno (Radić i sur, 2010). Nakon c-mitoze, druga najzastupljenija mutacija su ljepljivi kromosomi. Ljepljivi kromosomi se prepoznaju u metafazi, to su nepravilno smotane i međusobno povezane strukture, znak su toksičnog učinka na organizaciju kromatina zbog utjecaja na histonske bjelančevine (Radić i sur, 2010). Dalje su zabilježeni fragmentirani kromosomi i anafazni mostovi. Fragmentirani kromosomi su mali dijelovi koji su odvojeni od ostatka kromosoma zbog prekida DNA molekule, a anafazni mostovi su jedna ili dvije kromosomske strukture koje povezuju dvije kromosomske skupine tijekom anafaznog razdvajanja zbog nepotpunog odvajanja kromatida od kromosoma (Cabaravdic, 2010). Udio mutacija na većini skupina je manji od onoga što su zabilježili radovi Vareško (2017) i Grubišić i Medić (2023).

Ovi rezultati pokazuju da je neobrađena fotopolimerska smola djelovala citotoksično i genotoksično na korjenčiće, poluobrađena je djelovala samo citotoksično, dok je potpuno obrađena smola djelovala genotoksično. Opovrgnuće hipoteze 4, gdje je umjesto najviše aberacija na neobrađenoj smoli, uočeno najviše na obrađenoj smoli, se može objasniti da je izlaganje UV-A zračenju lampe za nokte bilo pretjerano te je izazvalo razgrađivanje smole (Bouchareb i Doufnoune, 2025), lomove u spojevima polimera i mikrorupice na površini kockica (Pszczółkowski i Zaborowska, 2025) koje su pospješile difuziju spojeva u smoli (fotoinicijatori, amini, akrilati, metakrilati) te je destilirana voda u tim otopinama zbog tog razloga bila najbogatija u spojevima koji su uzrokovali već navedene aberacije u velikom broju. Nadovezujući se na preveliko izlaganje UV svjetlosti, preduga izloženost UV svjetlosti mogu izazvati fotolizu fotoinicijatora, spojeva koji apsorbiraju UV svjetlost te stvaraju radikale koji pokreću polimerizaciju smole, te na taj način se stvara višak slobodnih radikala koji reagiraju s proteinima, DNA i lipidima.

Iako je hipoteza 4 opovrgnuta, dokazalo se da je iznimno bitno pridržavati se uputa tijekom i nakon procesa ispisa fotopolimerskom smolom 3D pisačem, te da treba obratiti pažnju na vrijeme izlaganja UV zračenju pri obradi materijala. Izloženost UV zrakama rezultira strukturalnim promjenama oblika ispisanih modela povećavajući dodirnu površinu i omogućavajući pojačano otpuštanje molekula koje su nastale tim procesom, ali i postupnom razgradnjom smole. Stoga proizvodi fotopolimerske smole predstavljaju potencijalno negativan utjecaj na okoliš.

Iako se ovo istraživanje bavilo utjecajem gotovih proizvoda nastalih stereolitografijom i razlikom obrade nakon ispisa, buduća istraživanja bi se mogla baviti toksičnošću tekuće fotopolimerske smole. Uz toksičnost tekuće smole, veliki problem predstavljaju hlapljivi organski spojevi iz tekuće smole. Predmet daljnjih istraživanja mogao bi biti utjecaj tih spojeva na zdravlje ljudi i okoliš te dodatna istraživanja koja uspoređuju koncentraciju tih spojeva među svim fazama izrade predmeta. Također je potrebno daljnje istražiti optimalno vrijeme UV izlaganja i valnu duljinu svjetlosti kako bi se formirali polimeri od svih rezidualnih monomera, ali spriječilo razgrađivanje smole. Ovakva istraživanja pridonijela bi razvoju sigurnih fotopolimerskih smola.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja, zaključeno je sljedeće:

- Neobrađena i poluobrađena smola inhibiraju rast korjenčića;
- Potpuno obrađena smola nema ni pozitivan ni negativan utjecaj na rast korjenčića;
- Korjenčići u tretmanima neobrađene smole pokazuju morfološke promjene u vidu stanjivanja te postaju sluzavi i prozirni;
- Visoki mitotski indeks u većini tretmana ne pokazuje značajna statistička odstupanja u odnosu na kontrolu;
- Udio kromosomskih aberacija u tretmanima obrađene i neobrađene smole statistički značajno ne odstupa od kontrolne skupine;
- Udio interfaznih vakuola zabilježen u tretmanima poluobrađene smole statistički značajno ne odstupa od kontrolne skupine;
- Neobrađena fotopolimerska smola pokazuje citotoksični i genotoksični utjecaj, dok poluobrađena smola pokazuje samo citotoksični utjecaj, a potpuno obrađena smola samo genotoksični utjecaj;
- Utjecaj postupka obrade materija fotopolimerske smole nakon ispisa 3D pisačem ima utjecaj na zdravlje ljudi i okoliša;

- Neophodno je više posvetiti pažnju istraživanjima o utjecaju i obradi proizvoda stereolitografije na zdravlje ljudi i okoliša.

ZAHVALA
Zahvaljujemo se Viljemu Bezjaku koji nam je omogućio prototipiranje 3D pisačem, Lini Lončar na posudbi UV lampe te Josipu Žižiću, mag. ing. mech., vlasniku tvrtke Make Idea d.o.o. gdje smo vršili ispis 3D kockica.

LITERATURA

aditivna proizvodnja. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2013. – 2026. Pristupljeno 16.11.2025. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/aditivna-proizvodnja>.
Baguley D. A., Evans G. S., Bard D., Monks P. S., Cordell R. L. 2025. Review of volatile organic compound (VOC) emissions from desktop 3D printers and associated health implications. Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology 36: 149–166.
Bolsunovsky A., Trofimova E., Zueva A., Dementyev D., Petrichenkov M. 2022. Effect of gamma radiation on cytogenetic and growth endpoints of *Allium cepa*. Doklady. Biochemistry and biophysics 503: 85–89.
Bouchareb S., Doufnoune R. 2025. Effect of UV post-curing on the mechanical properties of photopolymer resin in stereo-lithographic 3D printing. Materials Letters 394.
Brooks A.K., Yadavalli V.K. 2025. Post-print processing to minimize cytotoxicity of 3D-printed photopolymer resins for biomedical applications. Journal of Applied Polymer Science 142(9): e56545.
Cabaravdic M. 2010. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to benzo(a)pyrene. Medicinski arhiv 64(4): 215–218.
citotoksičnost. Hrvatski opći leksikon (2012), mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2026. Pristupljeno 21.3.2026. <https://hol2.lzmk.hr/clanak/citotoksicnost>.
Cvitković P., Tabak K. 2025. Ispitivanje genotoksičnosti i citotoksičnosti zračenja UV lampi za nokte. Bioznalac 11: 64–78.
Feretti D., Zerbini I., Zani C., Ceretti E., Moretti M., Monarca S. 2007. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. Food additives and contaminants 24: 561–572.
Fiskesjö G. 1988. The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 197: 243–260.
Grubišić T., Medić V. 2023. Ispitivanje toksičnosti troske iz Dugog Rata pomoću *Allium cepa* testa. Bioznalac 9: 72–83.
genotoksičnost. Hrvatski opći leksikon (2012), mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2026. Pristupljeno 21.3.2026. <https://hol2.lzmk.hr/clanak/genotoksicnost>.
Huang J., Qin Q., Wang J. 2020. A review of stereolithography: processes and systems. Processes 8: 1138.
Khanna N., Sharma S. 2013. *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review. Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research 1: 105–119.
Kreß S., Schaller-Ammann R., Feiel J., Priedl J., Kasper C., Egger D. 2020. 3D printing of cell culture devices: assessment and prevention of the cytotoxicity of photopolymers for stereolithography. Materials 13(13): 3011.
Leme D. M., Marin-Morales M. A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. Mutation Research/Reviews in Mutation Research 682: 71–81.
Macdonald N. P., Zhu F., Hall C. J., Reboud J., Crosier P. S., Patton E. E., Wlodkowic D., Cooper J. M. 2016. Assessment of biocompatibility of 3D printed photopolymers using zebrafish embryo toxicity assays. Lab on a Chip 16(2): 291–297.
Pszczółkowski B, Zaborowska M. 2025. Effect of layer exposure time in SLA-LCD printing on surface topography, hardness and chemical structure of UV-cured photopolymer. Lubricants 13(9): 406.
Radić S., Stipaničev D., Vujcić V., Marijanović Rajcić M., Širac S., Pevalek-Kozlina B. 2010. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. The Science of the Total Environment 408: 1228–1233.
Satyanarayana B., Prakash K. J. 2015. Component replication using 3D printing technology. Procedia Materials Science 10: 263–269.
Sreeranjini S., Siril E. A. 2011. Evaluation of anti-genotoxicity of the leaf extracts. Plant Soil and Environment 57(5): 222–227.
Şuțan A. N., Popescu A., Mihăescu C., Soare L. C., Marinescu M. V., 2014. Evaluation of cytotoxic and genotoxic potential of the fungicide ridomil in *Allium cepa* L. Analele Ştiinţifice ale Universităţii „Al. I. Cuza" Iaşi s. II a. Biologie vegetală 60(1): 5–12.
Tedesco S., Laughinghouse IV H. 2012. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. doi: 10,5772/31371
Umeljić V. 2004. Crveni luk, U svijetu cvijeća i pčela: atlas medonosnog bilja. https://www.plantea.com.hr/crveni-luk/, pristupljeno: 16.11.2025.
Vareško A. 2017. Ispitivanje mutagenosti antiperspiranta i dezodoransa na korjenčićima luka. Bioznalac 3: 149–160.
Wong K. V., Hernandez A. 2012. A review of additive manufacturing. International Scholarly Research Notices. doi:10,5402/2012/208760
Xavier M., Pantaleão S., Scher R., Ciolini R., d'Errico F., Souza S. 2021. *Allium cepa* used as a dosimetry system in nuclear and radiological emergencies. European Physical Journal Plus 136: 682.

Zhang Q., Davis A. Y., Black M. S. 2022. Emissions and chemical exposure potentials from stereolithography vat polymerization 3D printing and post-processing units. ACS Chemical Health & Safety 29: 184–191.

PRILOZI

Prilog 1 Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p-vrijednosti) određene su primjenom Tukey-Kramer HSD post-hoc testa: K- (voda), K+ (vodikov peroksid), V (neobrađena smola), A (smola isprana izopropilnim alkoholom), U (isprana smola izložena UV svjetlu); 1 (volumen 1 cm³), 2 (volumen 8 cm³).

Parovi tretmana	Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p-vrijednosti)			
	Duljina korjenčića	Mitotski indeks	Kromosomske aberacije	Interfazne vakuole
K- vs K+	p < 0,000001	0,346585	0,948963	0,997045
K- vs V1	p < 0,000001	0,246530	0,999994	0,998155
K- vs A1	p < 0,000001	0,165762	1,000000	0,079779
K- vs U1	0,570775	0,483763	0,654370	0,978642
K- vs V2	p < 0,000001	0,054421	0,876234	0,992125
K- vs A2	p < 0,000001	0,716401	1,000000	0,459205
K- vs U2	0,999995	0,064450	0,373519	0,995971
K+ vs V1	0,299472	1,000000	0,987515	1,000000
K+ vs A1	0,002847	0,999993	0,962435	0,383681
K+ vs U1	p < 0,000001	0,999998	0,998502	0,999996
K+ vs V2	0,020777	0,993425	1,000000	1,000000
K+ vs A2	0,035207	0,996232	0,914048	0,903118
K+ vs U2	p < 0,000001	0,996347	0,974994	1,000000
V1 vs A1	p < 0,000001	0,999999	0,999999	0,270124
V1 vs U1	p < 0,000001	0,999985	0,801177	0,999959
V1 vs V2	p < 0,000001	0,994595	0,957938	1,000000
V1 vs A1	p < 0,000001	0,990668	0,999904	0,833417
V1 vs U2	p < 0,000001	0,997189	0,533844	1,000000
A1 vs U1	0,000002	0,999519	0,693734	0,545558
A1 vs V2	0,997431	0,999384	0,902093	0,352980
A1 vs A2	0,984571	0,964886	0,999999	0,973869
A1 vs U2	p < 0,000001	0,999775	0,411828	0,309946
U1 vs V2	p < 0,000001	0,969455	0,999628	0,999999
U1 vs A2	p < 0,000001	0,999731	0,575714	0,970758
U1 vs U2	0,675642	0,979536	0,999973	0,999993
V2 vs A2	0,999998	0,766447	0,816024	0,903137
V2 vs U2	p < 0,000001	1,000000	0,986471	1,000000
A2 vs U2	p < 0,000001	0,806765	0,304580	0,870976
Statistički značajno p < 0,05		Granično statistički značajno p ≈ 0,05		