Ispitivanje razlika u citotoksičnom i genotoksičnom djelovanju sintetičkih i prirodnih boja za kosu metodom *Allium*-testa

Franka Atlija, 4.razred
Kaja Cvitanović, 4.razred

Srednja škola Antun Matijašević Karamaneo, Vis
Mentor: *Josipa Poduje*

SAŽETAK

Boje za kosu često su korišten i popularni proizvod modernog doba. Bojenje kose prošireno je među svim generacijama, a nedovoljno se zna o utjecaju boja za kosu na ljudsko zdravlje. Cilj ovog istraživanja jest naglasiti važnost razumijevanja mogućih posljedica učestalog korištenja boja za kosu te posebno ispitati njihovu citotoksičnost i genotoksičnost, koristeći pritom različite vrste sintetičkih i prirodnih boja. U istraživanju su korištene tri vrste boja: dvije sintetičke i jedna prirodna te su napravljene njihove različite koncentracije (5 %, 25 %, 50 %, 100 %). Promatran je broj, dužina i morfološka obilježja korjenčića lukovica *Allium cepa* L. i izračunat Hi-kvadrat odstupanja od pozitivne i negativne kontrole. Prebrojavanjem stanica određen je mitotski indeks, udio pojedine faze u mitozi te učestalost kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola. Rezultati su pokazali da sintetičke boje za kosu negativno utječu na broj, duljinu i morfološka obilježja korjenčića. Korjenčići tretirani otopinama sintetičkih boja bili su kraći, tanji, krhi te ih je bilo manje u odnosu na korjenčiće negativne kontrole i prirodne boje za kosu. Tretiranje korijena *Allium cepa* L. otopinama sintetičkih boja za kosu značajno je smanjilo mitotski indeks u odnosu na kontrolu i prirodne boje za kosu, poremetilo udjele pojedinih faza u mitozi, uzrokovalo zaustavljanje dioba te invazivne diobe. Sintetičke boje za kosu uzrokovale su veći broj kromosomskih aberacija u stanicama korijena *Allium cepa* L. u usporedbi s prirodnim bojama i kontrolom. Učestalost kromosomskih aberacija rasla je s porastom koncentracije otopina. Osnovni zaključak istraživanja je da postoje razlike u citotoksičnom i genotoksičnom djelovanju sintetičkih i prirodnih boja za kosu metodom *Allium*-testa tj. sintetičke boje za kosu uzrokuju veći stupanj citotoksičnosti i genotoksičnosti u stanicama luka (*Allium cepa* L.) u odnosu na prirodne boje za kosu.

Ključne riječi**:** *boja za kosu; Allium-test; kromosomske aberacije; citotoksičnost; genotoksičnost*

UVOD

Kosa predstavlja važan element vizualnog identiteta pojedinca. Odabir frizure i boje kose često služi kao sredstvo izražavanja osobnog identiteta, stavova i pripadnosti određenim društvenim ili kulturnim skupinama. Iako nema vitalnu funkciju, igra vrlo važnu ulogu u izgledu osobe. Ona je jedna od rijetkih fizičkih karakteristika kojima možemo sami manipulirati i mijenjati ih.

Boja za kosu koristila se još od starih Egipćana kada su pojačavali crvenu boju kose uporabom kane. U antičkom Rimu bojali su kosu kamilicom kako bi posvijetlili kosu i dobili zlatni odsjaj (Ashby i sur., 2004). Tada se radilo o prirodnim bojama za kosu koje su u modernom dobu često zaboravljene i zanemarivane. Zato danas najčešće govorimo o sintetičkim bojama za kosu čiji je razvoj krenuo nakon Drugog svjetskog rata. Odonda pa do sada boje za kosu su postale proizvod koji se učestalo koristi u gotovo svim životnim dobima (Ahmati i sur., 2022).

Boja za kosu je kozmetički proizvod namijenjen promijeni boje kose. Sastoje se od pigmenata, kemijskih ili prirodnih sastojaka koji omogućuju unošenje, modifikaciju ili uklanjanje boje u vlasima. Dijelimo ih na prirodne, mineralne i sintetičke. Prirodne boje za kosu (kana, kamilica...) mijenjaju nijansu boje, nisu toksične, traju kratko vrijeme. Mineralne ili metalne boje za kosu (srebrni nitrat ili olovne soli) zahtijevaju svakodnevnu upotrebu, one postupno potamnjuju ili posvjetljuju na kosi, potencijalno su otrovne i zato se više ne koriste (Sfarčić, 2021). Sintetičke boje za kosu klasificirane su prema otpornosti na pranje i stupnju postojanosti na: privremene boje za kosu (boja ostaje na mjestu nekoliko dana,

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.

imaju visoko molekularnu težinu i ostaju na površini kutikule), polutrajne boje za kosu (boja se zadržava tjednima, imaju malu molekularnu težinu i postižu plitko prodiranje u korteks), trajne boje kod kojih boja ostaje u nedogled, imaju vrlo malu molekularnu težinu i duboko prodiru u korteks (Sfarčić, 2021). Često sadrže kemikalije poput amina (razmiče ljuskice kutikule, tako iritiraju i isušuju kosu, npr. amonijak), aromatskih amina (alergeni, stvaraju trajnu boju, npr. p-fenilendiamin (PPD)), oksidansa (izbjeljuju, oštećuju strukturu, npr. vodikov peroksid) i resorcinola (pomoćni pigment, može iritirati i imati dugoročne učinke), koje mogu uništiti vlasište i imati toksične učinke na žive organizme (Sfarčić, 2021). Naime, boja za kosu sadrži najreaktivnije kemikalije koje se koriste u kozmetičkoj industriji. Prema istraživanju He i sur. (2022), iako se mnogi spojevi smatraju sigurnima za korisnike u koncentracijama korištenim u bojama za kosu, postoje proturječni podaci o velikom broju formulacija boja za kosu.

Genotoksičnost je pojam koji opisuje interakciju toksičnih tvari s genskim materijalom stanice koja dovodi do nasljednih promjena staničnog genotipa, točnije kromosomskih aberacija. Dok se citotoksičnost odnosi na sposobnost nekih tvari da usmrte stanicu ili onemoguće njezinu diobu (Baptista i sur., 2025). Njihova procjena je nužna za bolje razumijevanje potencijalnih rizika za ljudsko zdravlje i okoliš.

U istraživanju je procijenjen genotoksičan i citotoksičan učinak boja za kosu na korjenčiće običnog luka *Allium cepa L.* pomoću *Allium*-testa koji je jedan od najstarijih i najčešće upotrebljavanih biljnih testova za proučavanje djelovanja različitih kemijskih spojeva na genom viših biljaka, kojeg je 1938. godine uveo Levan, upotrijebivši korjenčiće zdravih lukovica običnog luka (*Allium cepa L.*). *Allium*-test pokazao se pogodan za utvrđivanje inhibicije rasta korjenčića, kromosomskih aberacija kao i za ispitivanje raznih supstanci iz okoliša na proces mitoze (Roša, 1998). Kromosomske aberacije su strukturne promjene kromosoma koje se javljaju zbog loma kromosoma, grešaka prilikom razdvajanja kromosoma u pojedinim fazama ili zbog grešaka tijekom *crossingovera*. To su na primjer: anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitoza, ljepljivi kromosomi. Anafazni mostovi pojavljuju se kao jedna ili dvije kromosomske strukture koje povezuje dvije grupe kromosoma prilikom razdvajanja u anafazi, dok se kod lomova kromosoma dio kromosoma odvojio od ostatka kromosoma. C-mitoza očituje se kao maksimalno kondenzirani kromosomi porazbacani po stanici, a ljepljivi kromosomi se prepoznaju u metafazi kao nepravilno smotane strukture koje su i međusobno povezane (Cabaravdic, 2010). Te se promjene mogu pratiti pomoću mikroskopa kojim daje uvid u izgled kromosoma u točno određenim fazama. Još jedan od promatranih pokazatelja citotoksičnosti su interfazne vakuole, specifične šupljine ili mjehurići ograničeni membranom koji se pojavljuju unutar jezgre ili citoplazme stanice tijekom faze mirovanja (interfaze) staničnog ciklusa.

Sve veća učestalost korištenja boja za kosu potaknula nas je na dublje promišljanje o njihovom utjecaju na zdravlje i okoliš i motivirala za ovo istraživanje. Iako su boje za kosu široko dostupne i svakodnevno korištene među različitim dobnim skupinama, potencijalni rizici povezani s njihovim sastavom i načinom odlaganja često ostaju zanemareni. Upravo zato želimo skrenuti pozornost na moguće opasnosti koje proizlaze iz njihove primjene, osobito među našim kolegama, prijateljima, obitelji i učiteljima. Osim zdravstvenih rizika, važno je istaknuti i ekološki aspekt, budući da nepravilno odlaganje boja za kosu može imati negativan utjecaj na okoliš (Belak, 2025).

Ključne varijable ovoga rada odnose se na boje za kosu, odnosno na njihove različite koncentracije, koje čine nezavisne varijable istraživanja. Zavisne varijable obuhvaćaju broj i duljinu korjenčića, udio

stanica u mitozi te raspodjelu stanica po pojedinim fazama mitoze, kao i učestalost kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola. Analizom navedenih pokazatelja procjenjuje se potencijalni citotoksični i genotoksični učinak ispitivanih boja za kosu.

Cilj ovog istraživanja jest naglasiti važnost razumijevanja mogućih posljedica učestalog korištenja boja za kosu. Posebno želimo ispitati njihovu citotoksičnost i genotoksičnost, koristeći pritom različite vrste sintetičkih i prirodnih boja. Usporedbom dobivenih rezultata nastojimo identificirati najsigurniju i najmanje štetnu opciju koju bismo mogli preporučiti potrošačima. Specifični ciljevi istraživanja su: usporediti citotoksičnost sintetičkih i prirodnih boja za kosu, odrediti utjecaj boja za kosu na mitotski indeks, analizirati učestalost i vrste kromosomskih aberacija i ispitati učinak različitih koncentracija boja na citotoksičnost i genotoksičnost.

U skladu s postavljenim ciljevima postavljene su slijedeće hipoteze:

- H1 Sintetičke boje za kosu uzrokuju veći stupanj citotoksičnosti i genotoksičnosti u korijenskim stanicama luka (*Allium cepa*) u odnosu na prirodne boje za kosu;
- H2 Tretiranje korijena *Allium cepa* otopinama sintetičkih boja za kosu značajno smanjuje mitotski indeks u odnosu na kontrolu i prirodne boje za kosu;
- H3 Sintetičke boje za kosu uzrokuju veći broj kromosomskih aberacija (npr. fragmenti, mostovi, zaostali kromosomi) u stanicama korijena *Allium cepa* L. u usporedbi s prirodnim bojama i kontrolom;
- H4 Povećanje koncentracije boja za kosu (sintetičkih i prirodnih) dovodi do porasta citotoksičnih.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno od 25. rujna 2025. do 17. siječnja 2026. u nekoliko koraka: proučavanje literature, rad u školskom laboratoriju i analiza podataka.

Istraživanje literature i analiza anketnog upitnika

Kako bi se bolje razumjela tema bilo je potrebno prvo istražiti i izvući potrebne činjenice i podatke iz dostupne literature. Istraživan je sastav boje za kosu i koji od kemijskih sastojaka djeluju citotoksično i genotoksično. Pomoću sakupljanih podataka izrađena je i tablica sa štetnim tvarima koje se nalaze u sastavu promatranih boje za kosu.

Priprema otopina boja za kosu

U istraživanju je korišteno ukupno tri različite vrste boja za kosu od kojih su dvije sintetičke: L'Oreal Paris Preference – trajna boja i Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja te jedna kana (Henna), 100 % prirodna boja. Različite vrste boja za kosu su s vodom miješane u omjeru 1:20 (za 5 % koncentraciju), 1:4 (za 25 % koncentraciju), 1:2 (za 50 % koncentraciju), dok se za 100 % koncentraciju koristila nerazrijeđena boja za kosu. Ukupni volumen svih priređenih koncentracija bio je 50 mL. Za svaku vrstu boje za kosu i određenu koncentraciju provedena su po tri mjerenja stoga su otopine podijeljene u 3 plastične posudice. Također su pripremljene tri plastične posudice s destiliranom vodom namijenjene negativnoj kontroli i tri plastične posudice s vodikovim peroksidom (0,3 M) kao pozitivnom kontrolom. Vodikov peroksid korišten je kao pozitivna kontrola zbog njegove dostupnosti i korištenja kod istraživanja Radića i sur. (2010), jer je pokazano da vodikov peroksid uzrokuje u stanicama oksidativni stres, što znači da uzrokuje povećanje koncentracije kisikovih radikala koji dovode do oštećenja DNA.

Allium cepa L. pod utjecajem otopina različitih boja za kosu

Za istraživanje korišteno je ukupno 42 lukovice *Allium cepa* L. (kontrola po 3 mjerenja). Lukovicama *Allium cepa* L. veličine 15 – 20mm i težine oko 4 g skalpelom su odstranjeni osušeni dijelovi kako bi korijen mogao rasti. Postavljene su na epruvete napunjene destiliranom vodom tako da donjim dijelom dodiruju površinu vode. Praćen je rast korjenčića do dužine oko 1 cm. Nakon što su korjenčići narasli do 10 mm izdvojene su lukovice koje su bile kontrolna skupina i one su nastavile rast u destiliranoj vodi, a ostale lukovice su tretirane 24 sata različitima otopinama boja za kosu (koncentracije 5 %, 25 %, 50 %, 100 %). Nakon 24 sata dio korjenčića se fiksira mješavinom etanola i octene kiseline u omjeru 3:1 i pripremi za mikroskopiranje, a dio materijala je prebačen u destiliranu vodu na oporavak od 24 sata i potom fiksiran i pripremljen za mikroskopiranje.

Određivanje broja i duljine korjenčića _Allium cepa_ L.

Vršeno je praćenje kontrolne skupine i skupina pod utjecajem različitih boja za kosu tijekom 72 sata. Prebrojani su korjenčići na svim lukovicama *Allium cepa* L. i izmjerena im je duljina u mm, izmjerene vrijednosti bilježene su u radni dnevnik, izračunate prosječne vrijednosti dobivenih rezultata te statistički obrađene.

Određivanje mitotskog indeksa, udio pojedinih faza mitoze te uočavanje vrsta i učestalosti kromosomskih aberacija kod _Allium cepa_ L.

Vršni dio korjenčića duljine do 10 mm odstranjen je sa svježih korjenčića *Allium cepa* L. kontrolnih skupina i lukovica izloženih utjecaju otopina boja za kosu, potom je stavljen pomoću pincete u staklenu posudu s destiliranom vodom i tamo ostavljen 1 minutu. Nakon toga vršni dio korjenčića je premješten 10 minuta u staklenu posudu sa 6 M klorovodičnom kiselinom. Ponovo se korjenčići stavljaju u destiliranu vodu oko 1 minute kao bi bili isprani nakon čega se premještaju u staklenu posudu sa acetoorceinom gdje se oboje slijedećih 20 minuta. Vršni dio korjenčića duljine oko 0,5 mm stavljen je na predmetno stakalce i prekriven sa pokrovnim stakalcem. Preko pokrovnog stakalca stavljen je komadić filter papira te palcem preparat pritisnut kako bi se stanice preparata jednoslojno rasporedile. Pripremljeni preparat promatran je pod mikroskopom, zbog jednostavnijeg prebrojavanja oko 200 stanica po preparatu te uočavanja stanica u diobi i onih koje nisu u diobi, preparat je fotografiran. Od stanica koje su u diobi određuje se udio stanica u profazi, metafazi, anafazi i telofazi. Također se određuju vrste i učestalost kromosomskih aberacija kod korjenčića tretiranih različitim razrjeđenjima boje za kosu i nakon oporavka od 24 sata u destiliranoj vodi.

Statistička obrada rezultata

Sve dobivene vrijednosti statistički su obrađene. Izračunate su prosječne duljine korjenčića lukovica *Allium cepa* L. prema formuli:

$$\mathrm{MKL} = \frac{DKL}{NL}$$

MKL= prosječne duljine korjenčića lukovica
DKL= zbroj duljina svih korjenčića lukovica
NL= broj korjenčića svih lukovica.

Izračunat je i prosječan broj korjenčića lukovica *Allium cepa* L. prema formuli:

$$\mathrm{MKL} = \frac{DKL}{NL}$$

MKL= prosječnog broja korjenčića lukovica
DKL= zbroj korjenčića lukovica
NL= broj lukovica.

Proveden je hi – kvadrat test, kako bismo utvrdili statističku značajnost dobivenih rezultata tj. jesu li odstupanja kontrolnih skupina i skupina biljka izloženih utjecaju boje za kosu statistički značajna. Formula za izračunavanje hi-kvadrat testa:

$$x^2 = \sum \frac{(f0 - ft)^2}{ft}$$

Izračunat je i mitotski indeks (MI), koji govori koliki je udio stanica u korjenčiću promatranog *Allium cepa* L. u mitozi u odnosu na ukupan broj stanica promatranog uzorka. Korištena je sljedeća formula za izračunavanje mitotskog:

$$\text{MI} = \frac{\text{broj stanica u mitozi}}{\text{ukupan broj stanica}}$$

Izračunat je i udjel pojedinih faza mitoze, koji govori koliki je udio stanica u korjenčiću promatranog *Allium cepa* L. u pojedinoj fazi u mitozi u odnosu na ukupan broj stanica koje su u diobi promatranog uzorka. Korištena je sljedeća formula za izračunavanje udjela pojedine faze mitoze:

$$\text{udio pojedine faze u mitozi} = \frac{\text{broj stanica u pojedinoj fazi mitoze}}{\text{ukupan broj stanica u diobi}}$$

REZULTATI

Prebrojavanjem korjenčića i mjerenjem njihovih duljina te analizom izrađenih mikroskopskih preparata utvrđeni su sljedeći rezultati.

U tablici 1 navedene su oznake koje se koriste u daljnjem tekstu rada. Slika 1 prikazuje dio ispitanih lukovica u pripravljenim testnim otopinama.

Tablica 1 Legenda korištenih oznaka za različite boje i njihove koncentracije

Oznake	Vrste testnih otopina
PP	pozitivna kontrola – vodikov peroksid
NP	negativna kontrola – destilirana voda
L1	100 % L'Oreal Paris Preference – trajna boja
L2	50 % L'Oreal Paris Preference – trajna boja
L3	25 % L'Oreal Paris Preference – trajna boja
L4	5 % L'Oreal Paris Preference – trajna boja
S1	100 % Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja
S2	50 % Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja
S3	25 % Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja
S4	5 % Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja
K1	100 % Henna (kana) – 100 % prirodna boja
K2	50 % Henna (kana) – 100 % prirodna boja
K3	25 % Henna (kana) – 100 % prirodna boja
K4	5 % Henna (kana) – 100 % prirodna boja



Slika 1 Prikaz analiziranih korjenčića iz različitih testnih otopina (legenda navedena u tablici1)

Jasno je vidljivo da najkraće korjenčiće imaju uzorci tretirani otopinama L'Oreal Paris Preference i pozitivne probe (vodikova peroksida). Kraće korjenčiće uočavamo kod lukovica tretiranih otopinama boje Schwarzkopf LIVE Ultra Brights. Korjenčići kane su najsličniji negativnoj probi.

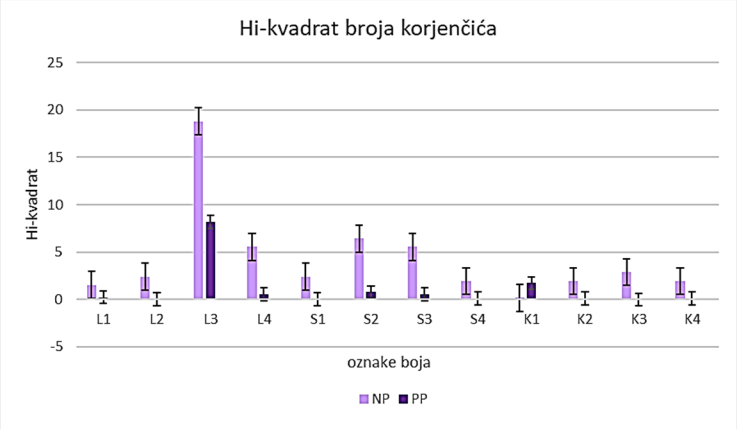
U tablici 2 su detaljniji rezultati analize korjenčića.

Tablica 2 Rezultati duljine, broja i morfologije korjenčića

Oznake	Broj korjenčića	Duljina korjenčića (mm)	Morfologija korjenčića
NP	31	33	dugi, čvrsti, ravni, neobojani
PP	19	19	kratki, mekani, krhki, savijenog vrha, neobojani

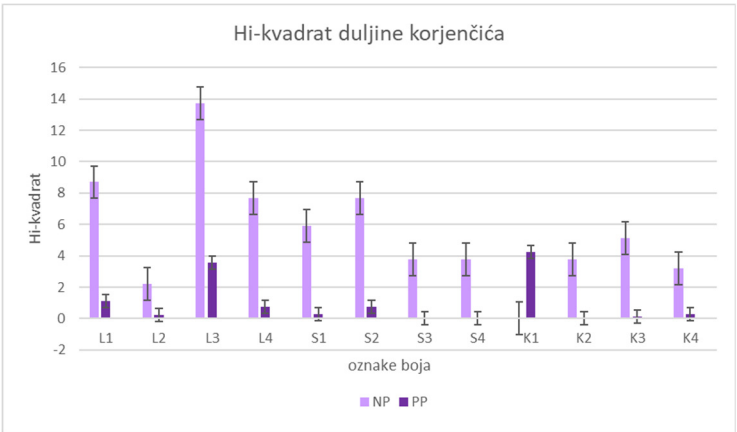
Oznake	Broj korjenčića	Duljina korjenčića (mm)	Morfologija korjenčića
L1	22	13	kratki, mekani, krhki, savijenog vrha, obojani
L2	20	22	kratki, mekani, krhki, savijenog vrha, obojani
L3	5	9	kratki, mekani, krhki, savijenog vrha, obojani
L4	15	14	kratki, mekani, krhki, savijenog vrha, obojani
S1	20	16	kratki, mekani, krhki, ravni, obojani
S2	14	14	kratki, mekani, krhki, ravni, obojani
S3	15	19	kratki, mekani, krhki, ravni, obojani
S4	21	19	kratki, mekani, krhki, ravni, obojani
K1	28	34	dugi, ravni, obojani, čvrsti
K2	21	19	dugi, ravni, obojani, čvrsti
K3	19	17	dugi, ravni, obojani, čvrsti
K4	21	20	dugi, ravni, obojani, čvrsti

Na slici 2 su vidljiva viša odstupanja od negativne kontrole (NP) u odnosu na odstupanja od pozitivne kontrole (PP). Izračunani stupanj slobode je 1 te prema odabranoj razini značajnosti p = 0,05 kritička vrijednost hi-kvadrat iznosi 3,841. Svi rezultati niži od tog broja ne smatraju se statistički značajnima. Najizraženije odstupanje uočavamo kod 25 %-tne koncentracije L'Oreal Paris Preference boje čiji hi kvadrat iznosi 18,7778 u odnosu na negativnu kontrolu te 8,16667 u usporedi s pozitivnom kontrolom. Još neka značajnija odstupanja od negativne kontrole uočavamo kod uzoraka L4, S2 i S3 koje iznose oko 6, dok kod pozitivne kontrole nemamo više značajnijih odstupanja.



Slika 2 Hi-kvadrat prosječnog broja korjenčića

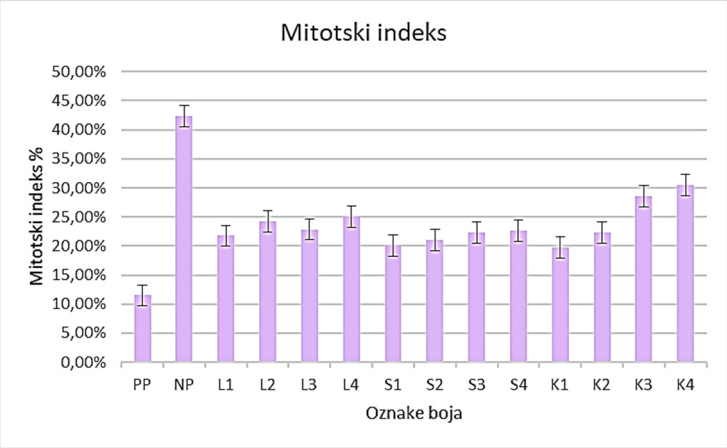
Analizom rezultata hi-kvadrata (slika 3) opet uočavamo izraženija odstupanja od negativne kontrole (NP) u usporedbi s pozitivnom kontrolom (PP).



Slika 3 Hi-kvadrat prosječne duljine korjenčića

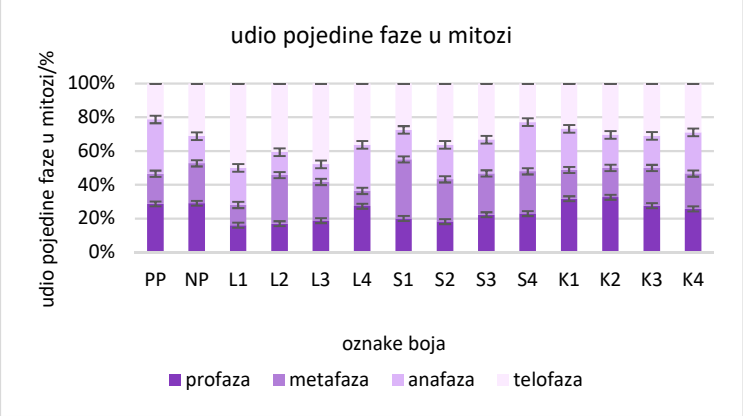
Dobiveni stupanj slobode je 1 te prema odabranoj razini značajnosti p = 0,05 kritička vrijednost hi-kvadrat iznosi 3,841. Svi rezultati niži od tog broja ne smatraju se statistički značajnima. Kod uzoraka tretiranih L'Oreal Paris Preference vidljiva su najveća odstupanja u odnosu na negativnu kontrolu, L3 čak 13,7143. Bitnija odstupanja od NP uočena su i kod uzoraka boje Schwarzkopf LIVE Ultra Brights, najveća je S2 (7,6809). Najmanja odstupanja od NP primijećena su kod prirodne boje, najveće odstupanje je iznosilo 5,12 (K3). Jedino statistički značajno odstupanje u usporedbi s PP uočeno je kod uzorka K1 (4,2453).

Iz slike 4 je vidljiv niski postotak stanica u mitozi kod PP, te visoki udio kod NP. Mitotski udjeli tretirani kanom K3 (28,57 %) i K4 (30,54 %) imali su najveći postotak stanica u mitozi u usporedbi s ostalim korištenim bojama. Kod korjenčića tretiranih L'Oreal Paris Preference bojom za kosu MI prosječno je iznosio nešto manje od 25 %. Bitno je naglasiti da među različitim koncentracijama boje nisu uočene veće razlike u postotku stanica u mitozi. Naprimjer, kod različitih koncentracija Schwarzkopf LIVE Ultra Brights primijećen je postepeni rast. Najmanji udio je vidljiv kod 100 %-tne koncentracije S1 te postepeno raste do 5 %-tne koncentracije S4.



Slika 4 Mitotski indeks korjenčića luka ovisno o tretmanima

Promatranjem udjela pojedinih faza u mitozi (slika 5) uočavamo da se kod kod korjenčića tretiranih L'Oreal Paris Preference bojom najveći postotak stanica nalazi u telofazi (kod L1 gotovo 50 %).

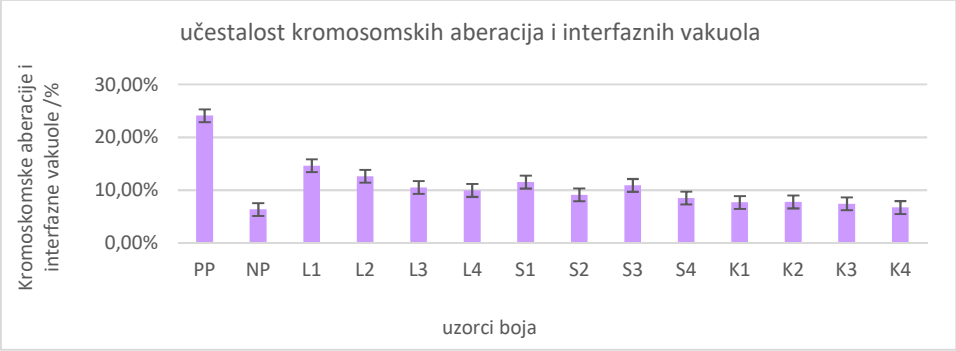


Slika 5 Udio pojedine faze u mitozi

Broj stanica u profazi je ujednačen, iznimka je L4 gdje je postotak nešto veći, oko 28 %. Kod L1 i L4 vidljiv je manji udio metafaze na sprema anafazi dok je kod uzoraka L2 i L3 suprotna situacija. Rezultati različitih koncentracija boje Schwarzkopf LIVE Ultra Brights ukazuju na postepeno povećavanje udjela profaze i anafaze od veće koncentracije boje prema manjoj. Broj stanica u metafazi je gotovo

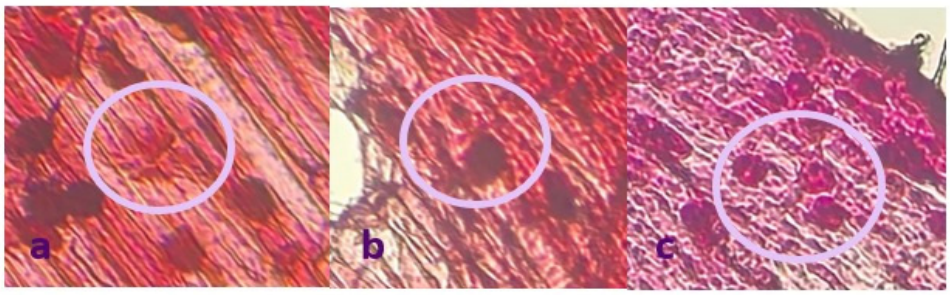
izjednačen kod svih koncentracija boje Schwarzkopf LIVE Ultra Brights (oko 25 % stanica). Iznimka je 100 %-tna koncentracije (S1) s nešto većim udjelom (oko 37 %). Također je uočen neznatno veći udio stanica u telofoazi. Kod uzoraka tretiranima prirodnom bojom rezultati za pojedine faze su uravnoteženi, odnosno udjeli pojedinih faza u mitozi su gotovo izjednačeni. Iznimke su malo veći udjeli stanica u profazi i manji u metafazi kod otopina većih koncentracije K1 i K2.

Iz slike 6 je vidljiv najveći udio kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola u pozitivnoj kontroli te najmanji kod negativne kontrole što je bilo očekivano. Nadalje, najveća učestalost uočena je kod lukovica tretiranih L'Oreal Paris Preference (kod L1 gotovo 15%). Vidljivo je i proporcionalno smanjenje kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola usporedno sa smanjenjem koncentracija boje. U različitim koncentracijama tretiranim Schwarzkopf LIVE Ultra Brights nema pravilnog redoslijeda pojave kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola. Uzorci prirodne boje su bili najsličniji negativnoj kontroli te je njihova učestalost bila približno jednaka, iako je učeno blago smanjenje učestalosti proporcionalno smanjenju koncentracije.



Slika 6 Udjeli svih uočenih kromosomskih aberacija (KA) i interfaznih vakuola (IV)

Na slici 7 su vidljive najčešće pronađene kromosomske aberacije (slika 7a – segmentirana jezgra i slika 7b – mikronukleus) na uzorku tretiranom 100 %-tnom koncentracijom L'Oreal Paris Preference (trajna boja) te interfazne vakuole (Slika 7c – interfazne vakuole) na uzorku tretirano 100 %-tnom koncentacijom privremene boje Schwarzkopf LIVE Ultra Brights.



Slika 7 Uočene kromosomske aberacije i interfazne vakuole: a) segmentirana jezgra u uzorku L1, b) mikronukleus u uzorku L1, c) interfazne vakuole u uzorku S1

U tablici 3 jasno su prikazani ključni štetni sastojci ispitanih boja. Vidljivo je da trajna boja L'Oreal Paris Preference ima najviše poznatih štetnih sastojaka (p-fenilendiamin (PPD), amonijak, vodikov peroksid, resorcinol). Privremena boja Schwarzkopf LIVE Ultra Brights ima drukčiji sastav te manji broj poznatih toksičnih tvari za stanicu (samo ethanolamine). Također možemo primjetiti da prirodna boja kana ne sadrži nikakve poznate štetne sastojke.

Tablica 3 Usporedba poznatih toksičnih tvari za stanicu i sastojaka istraživanih boja

Štetni sastojci	L'Oreal Paris Preference	Schwarzkopf LIVE Ultra Brights	Henna (kana)
Amini (ethanolamine)	-	+	-
Aromatski amini (p-fenilendiamin PPD)	+	-	-
Oksidansi (amonijak, vodikov peroksid)	+	-	-
Resorcinol	+	-	-

RASPRAVA

Ovo istraživanje ukazuje na moguće učinke različitih vrsta boja za kosu (L'Oreal Paris Preference, Schwarzkopf LIVE Ultra Brights, Henna Kana). Različite koncentracije (100 %, 50 %, 25 %, 5 %) boje za kosu pokazale su drukčija djelovanja. Saznajemo da su sintetičke boje u većini segmenata osjetno štetnije (citotoksične i genotoksične) u odnosu na prirodno boju kanu. Više koncentracije korištenih boja također su bile u nekim slučajevima negativnijeg utjecaja u odnosu na njihove inačice nižih koncentracija. Prisutnost raznih kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola itekako to dokazuje.

Istraživanje je provedeno na korjenčićima lukovica *Allium cepa L.*. Na samoj vizualnoj analizi korjenčića uočeni su negativni učinci boja (slika 1). Korjenčići na kojima su korištene sintetičke boje bili su tanki, manje čvrstoće, savijeni na vrhu i promijenjene boje, dok su korjenčići kod prirodne boje Kana bili gotovo jednaki negativnoj kontroli (destiliranoj vodi). Daljnjim proučavanjem korjenčića, točnije prebrojavanjem i mjerenjem njihove duljine (tablica 2) uočeno je da su korjenčići sintetičkih boja kraći i u manjem broju u usporedbi s prirodnom bojama. U radu je to prikazano pomoću hi-kvadrata (slika 2 i slika 3). Na njima je vidljivo odstupanje sintetičkih boja, posebno 100 %-tne boje L'Oreal Paris Preference, koja značajno odstupa od negativne kontrole. Sve to ukazuje da korištene boje za kosu, točnije korištene sintetičke boje imaju citotoksičan učinak te time uzrokuju inhibiciju stanične diobe (Cabaravdic, 2010).

Izračunavanjem mitotskog indeksa primijećen je manji broj stanica u mitozi kod sintetičkih boja i pozitivne kontrole u odnosu na prirodnu boju i negativnu kontrolu. Mitotski indeks (MI) u vodi kao i negativnoj kontroli iznosio je 41,34 %, dok se u radovima drugih istraživača navode MI od 13 % (Sutan, 2014) pa sve do 36,57 % (Grubišić i Medić, 2023). MI pozitivne kontrole (H_2O_2) je znatno manji (11,48 %) kao i kod istraživanja Vareško (2017) te Radić i sur. (2010). Lukovice tretirane otopinama prirodne boje imale su vidljivo veće mitotske indekse od pozitivne kontrole za razliku od sintetičkih boja (slika 4). To nam ponovo ukazuje na citotoksičan učinak boja za kosu. Štoviše, niži mitotski indeks može ukazivati i na sporiji ulaz stanica u diobu ili stanični zastoj što navodi i Cabaravdic (2010). To potvrđuje našu hipotezu H2 da se tretiranje korijena *Allium cepa* L. otopinama sintetičkih boja za kosu značajno smanjuje mitotski indeks u odnosu na kontrolu i prirodne boje za kosu. Nadalje, izračunavanjem udjela pojedine faze mitoze saznali smo da različite boje za kosu mijenjaju postotak različitih faza koji bi trebao biti gotovo jednak za svaku fazu, ako uspoređujemo negativnoj kontroli (slika 5). U uzorcima tretiranima bojom L'Oreal Paris Preference većina se stanica nalazila u telofazi i anafazi, što najčešće ukazuje na intenzivnu diobu. Ujedno, to može ukazivati i na negativan nagli rast ili pojavu tumora. (Dulout i Olivero, 1984). Promatrajući uzorke Schwarzkopf LIVE Ultra Brights, kod nekih uzoraka je uočen veći udio stanica u metafaze. Wang i sur. (2017) navode da razlog tomu može biti oksidativni stres stanica i stanični zastoj. Kod lukovica tretiranim prirodnom bojom sve faze bile su gotovo izjednačene i slične negativnoj probi.

Analizom rezultata učestalosti kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola (slika 6) potvrđena je hipoteza H3. Sintetičke boje za kosu uzrokuju veći broj kromosomskih aberacija u stanicama korijena

Allium cepa L. u usporedbi s prirodnim bojama i kontrolom. Naime, najčešće pronađene kromosomske aberacije bile su segmentirane jezgre i mikronukleusi (slika 7). Mikronukleusi ukazuju na genotosičnost, odnosno lomljenje kromosoma i njihovo nepravilno razdvajanje dok nam segmentirane jezgre često ukazuju na staničnu smrt ili teške citotoksičnosti kao što kaže rad Baptiste i sur. (2025). Ipak prema učestalosti većinu postotka nose interfazne vakuole (slika 7) koje se pojavljuju kada je stanica pod visokim citotoksičnim stresom i izložena ekstremno štetnim kemikalijama. Uzorci tretirani bojom L'Oreal Paris Preference imaju najveću učestalost aberacija, slijede korjenčići tretirani privremenom bojom Schwarzkopf LIVE Ultra Brights. Još možemo primjetiti postepan porast učestalosti kromosomskih aberacija i interfaznih vakuola s porastom koncentracije boja (pogotovo u uzorcima L'Oreala). Uzorci tretirani prirodnom bojom imali su gotovo jednaku vrijednost kao negativna proba usporedno s povećanjem koncentracije. Razlog tomu je to što sintetičke boje sadrže amine i aromatske amine s dokazanim genotoksičnim potencijalom kao što kažu He i sur. (2022). Kana ne sadrži takve spojeve, što može objasniti njezin blaži biološki učinak.

Dodatnom analizamo literature ponađene su povezanosti između toksičnih sastojaka za stanice i sastojaka naših boja (tablica 3). Najviše štetnih sastojaka imala je trajna boja L'Oreal Paris Preference što se poklapa sa ostalim rezultatima u kojima je promatrana njena citotoksičnost i genotoksičnost. U istaživanju He i sur. (2022) uz veće spomenute amine i aromatske amine navodi se da su vodikov peroksid i amonijak (oksidansi), standardni sastojci u trajnim bojama za kosu, povezani s oksidativnim stresom i citotoksičnim učincima u stanicama kože i vlasišta. Također navode da takav oksidativni stres može dovesti do reakcija poput dermatitisa i iritacije kože. Nadalje Lee i sur. (2015) nam govore o citotoksičnosti resorcinola, točnije o njegovom negativnom učinku na broj stanica u mitozi. Ovaj dokaz ukazuje da neki sastojci boja za kosu mogu imati negativne biološke učinke, osobito pri čestoj i dugotrajnoj izloženosti.

Ovim istraživanjem je potvrđen pretpostavka o citotoksičnom i genotoksičnom učinku sintetičkih boja za kosu. Uz spomenute hipoteze H2 i H3 uzimanjem u obzir svega navedenog potvrđene su i ostale hipoteze H1 i H4 koje govore kako su sintetičke boje toksičnije od prirodnih i da se povećanjem koncentracije boje povećava i njihov negativan učinak. Toksičnost sintetičkih boja (L'Oreal Paris Preference – trajna boja i Schwarzkopf LIVE Ultra Brights – privremena boja) dokazana je pomoću *Allium*-testa govori nam da učestalo korištenje boja za kosu ima negativan, štoviše toksičan učinak na ljudsko zdravlje kao i na okoliš izložen spomenutim bojama. Kao optimalno rješenje preporučujemo prirodnu boju Henna (Kanu) koja nije pokazala značajne toksične učinke te se smatra najsigurnijim izborom za primjenu. Za poboljšanje i proširenje istraživanja trebalo bi se uzeti više uzoraka različitih boja te informirati ljude o najštetnijima. Također, ovim istraživanjem dokazali smo toksičnost sintetičkih boja za kosu, a u novim istraživanjima trebalo bi se koncentrirati na preciznije podatke o toksičnom učinku na ljudsko zdravlje.

Istraživanje bi trebalo proširiti tako što bi se bazirali na sastav pojedinih boja i odredili genotoksičnost i citotoksičnost pojedinih sastojaka.

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Sintetičke boje za kosu uzrokovale su veći stupanj citotoksičnosti i genotoksičnosti u korijenskim stanicama luka (*Allium cepa* L.) u odnosu na prirodne boje za kosu;

- Neki korjenčići iz otopina sintetičkih boja za kosu pokazuju morfološke promjene kao što su savijeni vrhovi, krhki, mekani i obojani korjenčići;
- Tretiranje korijena *Allium cepa* L. otopinama sintetičkih boja za kosu smanjuje mitotski indeks u odnosu na kontrolu i prirodne boje za kosu;
- Sintetičke boje za kosu uzrokovale su veći broj kromosomskih aberacija (fragmentirane jezgre, mikronukleusi) i interfaznih vakuola u stanicama korijena *Allium cepa* L. u usporedbi s prirodnim bojama i negativnom kontrolom.
- Povećanje koncentracije boja za kosu (sintetičkih i prirodnih) dovodi do porasta citotoksičnih i genotoksičnih učinaka;
- Prirodna boja kana pokazala se boljom inačicom te je u svim istraživanim segmentima uzrokovala manja ili ne značajna odstupanja u odnosu na negativnu probu.

LITERATURA

Ahmadi M., Saeedi M., Hedayatizadeh-Orman A., Eslami M., Janbabai G., Alizadeh-Navaei R. 2022. Association between hair dye use and cancer in women: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. African Health Sciences 22(2): 323–333.

Baptista F., Garcia P. V., Rodrigues A. S., Ladeira C. 2025. Genotoxicity and cytotoxicity assessment of volatile organic compounds in pathology professionals through the buccal micronuclei assay. Toxics 13(5): 411.

Belinak T. 2025. Kemijski utjecaj proizvodnje kozmetičkih sredstava na okoliš. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb.

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): 221–224.

He L., Michailidou F., Gahlon H. L., Zeng W. 2022. Hair dye ingredients and potential health risks from exposure to hair dyeing. Chemical Research in Toxicology 35(6): 901–915.

Pavlica M., Balabanić J. 2016. Mutacije gena i kromosoma. U: Draganović Matekalo J., Genetika i evolucija, Školska knjiga, Zagreb, str. 41–45.

Radić S., Stipaničev D., Vujčić V., Marijanović Rajčić M., Širac S., Pevalek-Kozlina B. 2010. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. Science of the Total Environment 408(5): 1228–1233.

Roša J. 1998. Utjecaj fosfogipsa iz industrijskog odlagališta na hrast lužnjak (*Quercus robur*). Šumarski list 122(11–12): 491–506.

Sfarčić N. 2021. Boje za kosu: sastav, kvaliteta te utjecaj na pojavnost karcinoma dojke. Doktorska disertacija, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, Split.

Vareško A. 2019. Ispitivanje mutagenosti antiperspiranta i dezodoransa na korjenčićima luka. Bioznalac 5: 149–160.

Dulout F. N., Olivero O. A. 1984. Anaphase-telophase analysis of chromosomal damage induced by chemicals. Environmental Mutagenesis 6(3): 299–310.

Wang G. F., Dong Q., Bai Y., Yuan J., Xu Q., Cao C., Liu X. 2017. Oxidative stress induces mitotic arrest by inhibiting Aurora A-involved mitotic spindle formation. Free Radical Biology and Medicine 103: 177–187.

Grubišić T., Medić V. 2023. Ispitivanje toksičnosti troske iz Dugog Rata pomoću *Allium cepa* testa. Bioznalac 9: 142–155.