

## Vad Petra és Varga Sabrina

### Mi is az eugenol? Avagy a szegfűszeg hatóanyagának vizsgálatai

A budapesti Berzsényi Dániel Gimnáziumban néhány éve létrehoztuk a kémiai önképzőkört. Az önképzőkör lényege, hogy a kémia iránt érdeklődő tanulók saját érdeklődési körüknek megfelelő kísérleteket végezzenek, prezentációt tartsanak az őket érdeklő témákról a többieknek, így egymástól tanulva ismerünk meg érdekesebbnél érdekesebb tényeket. Az önképzőkör keretein belül hazai és nemzetközi projektekbe is bekapcsolódunk és munkacsoportokban különböző kísérleteket, kutatásokat is végzünk. Jelen beszámoló a szegfűszeg jellegzetes illatát okozó egyik komponensének, az eugenolnak a kinyeréséről és élettani hatásainak vizsgálatáról szól. Az alapötletet a *Journal of Chemical Education* című folyóirat cikkeiből vettük, amelyekre irodalmazás közben bukkant rá egyikünk.

#### De mi is az a szegfűszeg?

Általában mindenkinek az első gondolata a fűszer, aminek markáns, jó illata van (1. ábra). A szegfűszeg is, mint a többi fűszerféle egy bizonyos növény részeként kezdi „életét”. A szegfűszeg (*Syzygium aromaticum*) a mirtuszvirágúak (*Myrtales*) rendjébe, a mirtuszfélék (*Myrtaceae*) családjába tartozó örökzöld, vízigényes fafaj, amely akár 15-20 méter magasságúra is megnőhet. Sri Lankában, Brazíliában, Tanzániában honos. A fűszerként használt része a vörösesbarna virágrügy (2. ábra). A rügyeket az ültetést követően a 6-8 év után lehet évente kétszer szüretelni, összesen körülbelül 35 kg-ot egy fáról. A szüret során a zárt rügyeket kézzel szedik le a fáról, majd pálmalevélbe csomagolva szárítják, amíg a már ismert barna színű fűszer nem lesz belőle. A szegfűszeg kesernyés, kissé égető és erősen aromás ízét a jelentős illóolaj tartalma adja.



1. ábra: A szegfűszeg fűszerként is használt szárított rügye

Ősi fűszerként nagy becsben tartották Európában, Észak-Afrikában és Ázsiában. A legkorábbi fűszerkereskedelemben is jelen volt. Az első irodalmi utalások Kr. e. 206 és Kr.u. 220 között keletkeztek. Ebben az időszakban, a kínai kultúrában a „nyelv fűszerének” nevezték. Az érdekes elnevezést azért kapta, mert amikor az udvari nép a császár elé járult, akkor szegfűszeget kellett rágcsálniuk a kellemetlen szájszag elkerülése érdekében. Európába arab kereskedők által jutott be, a 8. század óta pedig az egyik legfontosabb fűszerré vált a kereskedelemben.



2. ábra: a szegfűszeg friss rügye és virága

Mártásokhoz, paradicsomos vagy borsos ételekhez, páclevekhez és főleg sütemények ízesítésére használják. Savanyúságokhoz hozzáadva érdekes ízt kölcsönöz.

A szegfűszeg nem csak fűszerként fontos, hanem hasznos illóolajat préselhetünk ki belőle. Az illóolaj a megszáritott rügyből, levélből és hajtásból nyerhető ki vízgőz-desztillációval. A száritott rügyek illóolajtartalma 15-20%, míg a hajtásoké és a leveleké ennél jóval kisebb. Főként likőr és kozmetikai szerek gyártására használják fel. Az illóolaj legfontosabb része az eugenol (amiről később részletesen beszámolunk), ezen kívül tartalmaz még eugenol-acetátot, metil-aminketont, kariofillént és oleanolsavat is.

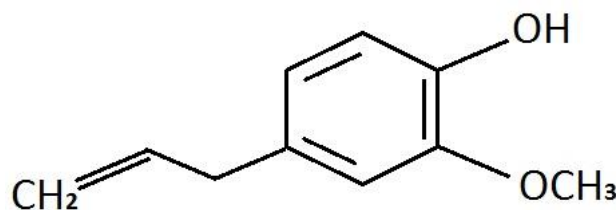
A szegfűszeg gyógyászati hatásai közismertek. Antibakteriális, parazita- és vírusölő, görcsoldó, gyulladáscsökkentő, helyi érzéstelenítő hatású. Légúti megbetegedések, szájüregi gyulladások, bélfertőzések, húgyúti fertőzések, reumás panaszok és bőrbántalmak ellen is használják. Leggyakrabban öblögető szerek, fogkrémek, inhalálók és krémek készítésénél alkalmazzák, valamint dohányt illatosítanak vele. Afrodiziákum, és a tüdőrák elleni hatását is feltételezik. Megfigyelték rovarriasztó hatását, a szegfűszegolaj, gerániumolaj és a kakukkfű olaj 1:1:1 arányú keveréke néhány órára távol tartotta a szúnyogokat. Egyes embereknél allergiás reakciót válthat ki a szegfűszeg, ilyenkor bőrirritáció léphet fel. Összességében egy igen sokszínű növényről és fűszerről van szó, amely meglepően hatékony betegségek ellen és igen hasznos a konyhában is.

### És mi is az eugenol?

A szegfűszeg egyik illatanyaga az eugenol, összetétele:  $C_{10}H_{12}O_2$  (3. ábra)

Az eugenol halványsárga színű, erős, szegfűszegre emlékeztető szagú folyadék. Levegőn megbarnul. Vízben rosszul oldódik, de apoláris oldószerek -mint az

alkohol- jól oldják. A szegfűszegolaj körülbelül 85%-át az eugenol alkotja. Az iparban szegfűszegolajból állítják elő 5%-os kálium-hidroxidos (KOH) oldattal való extrahálás (átoldás, átrázás) során, amelyet savanyítás és  $CO_2$ -os légkörben való desztillálás követ. Szintetikus vanillin előállításához használják fel, illatszereket gyártanak belőle, valamint mikroszkópos metszetek világosítására is alkalmas. Fertőtlenítő és enyhe érzéstelenítő hatása miatt a fogászatban és a gyógyszergyártásban is alkalmazzák.



3. ábra: az eugenol képlete

### Eugenol kinyerése kávéfőző segítségével

Az Alfonso Bialetti olasz mérnök által tervezett MokaExpress-t azaz a kotyogós kávéfőzőt talán mindenki ismeri, majdnem minden családban van legalább egy régi, a nagyapától örökölt darab. Működése egy egyszerű elven alapszik: A kávéfőző alsó részébe a vizet, a felsőbe pedig egy szűrőbe a kávé kell tenni. Melegítés hatására az alsó részben egyre több vízgőz keletkezik, ezért a nyomás nő. A nyomás emelkedése miatt a víz tovább melegszik, de nem kezd el forni. A nagy nyomás következtében a forró víz a kávé és a szűrőn keresztül a felső részbe megy át, miközben kioldja az aromákat és a hatóanyagokat.

Mi ezzel a módszerrel próbáltuk meg kivonni szegfűszegből az eugenolt. A hatóanyag kinyerését a *Journal of Chemical Education* folyóirat egyik cikke alapján végeztük, de a kísérleten változtattunk egy keveset. Az eredeti kísérletben leírt diklórmétán helyett kevésbé mérgező hexánt használtunk, valamint kávéfőző gép helyett a fent említett kotyogós kávéfőzővel végeztük el a kísérletet.

### Eugenol előállítása:

15 g egész szegfűszeget megőröltünk (4. ábra), majd 25 V/V%-os etanol-víz eleggyel kotyogós kávéfőzőben megfőztük (valójában nagy nyomáson vizes - alkoholos extrakciónak, kioldásnak vetettük alá), majd lehűtöttük az elegyet. Ezután 30 cm<sup>3</sup> n-hexánnal (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) rázótolcsérben extraháltuk (5. ábra), ugyanis az eugenol jobban oldódik hexánban, mint vízben. A hexános eugenolt félretettük, a vizes fázist pedig még kétszer 30 cm<sup>3</sup> hexánnal extraháltuk, hogy minél több eugenolt tudjunk előállítani, és kisebb legyen a veszteség. A hexános elegy eugenolt és acetil-eugenolt tartalmazott. Ezt az elegyet 30 cm<sup>3</sup> 2 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú nátrium-hidroxid - oldattal (NaOH) extraháltuk. A folyamat eredményeképpen a vizes fázisban oldódó nátrium-eugenolátot el tudtuk különíteni az acetil-eugenoltól. Kétszer megismételtük ezt a folyamatot, így a lúgos fázisba került az eugenol és 90 cm<sup>3</sup> nátrium-eugenolátot is tartalmazó elegy keletkezett. Az eugenolos oldat pH-ját koncentrált sósavval (cHCl)



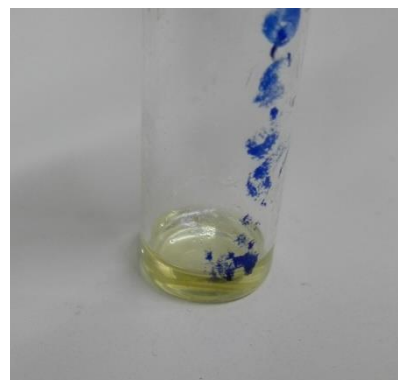
4. ábra: A kísérletek előkészítése

beállítottuk pH=1-re, így egy opálos emulzió keletkezett, amelyben kivált az eugenol, ami már ismét apoláris karakterű, vízben nem oldódik. A hatóanyag kinyeréséhez újabb 3x30 cm<sup>3</sup> hexános rázás következett (5. ábra). A kapott oldatban már csak hexán és eugenol volt. A tiszta eugenolt végül vízfürdős bepárlással kaptuk meg. A módszerrel kb. 2 cm<sup>3</sup> eugenolt sikerült kinyernünk a 15 g szárított szegfűszegből (6. ábra).



5. ábra: A szegfűszeg főzete és a sósavas elegy átrázása hexánba

Az anyag tisztaságát gázkromatográfiás módszerrel fogjuk ellenőrizni. Mivel egy középiskolai laboratóriumban végezzük a kísérleteinket, ilyen szintű műszeres felszerelés nem áll rendelkezésünkre, de külső partnerek segítségével a további vizsgálatok elvégzésére ígéreteket kaptunk.



6. ábra: A kinyert eugenol

### A kinyert hatóanyag tesztelése biológia módszerekkel

Az eugenol hatásait a *Journal of Chemical Education* ötletadó cikke az “Eugene, the Sleepy Fish” (Eugén, az álmos hal) című írás alapján terveztük meg. A cikkből kiindulva, újabb ötletekkel kiegészítve teszteltük különböző élőlényeken, mint például a haltáplálékként kapható vízibolhák, közönséges sütéshez használt élesztőgombák és penészgombák.

### Kísérletek vízibolhákkal (az eugenol, altató, nyugtató hatásának vizsgálata)

A kísérletekhez állatkereskedésekben kapható élő vízibolhákat használtunk. Az állatkereskedésben nem tudták megmondani, hogy melyik vízibolha fajt árulják, mert mikroszkóp alatt is alig lehet megkülönböztetni a két fajt, amely szóba jöhetett. Valószínűleg



*Daphnia magna* és *Daphnia pulex*, azaz nagy- és kis vízibolha kevert állományával végeztük a kísérleteket.

Az említett két vízibolhafaj a rákok (*Crustacea*) osztályába, az alsórendű rákok (*Entomostraca*) alosztályába, az ágascsapú rákok (*Cladocera*) rendjébe tartozó, tömegben vöröses színűnek látszó állatok. Nevüket a „pattogó” úszásuk miatt kapták. Tócsákban, édesvízi tavak sekély vizeiben élnek, a halak számára fontos táplálékul szolgálnak. A vízben lebegő szerves törmelékekkel és apróbb élőlényekkel táplálkoznak. Testüket egy, a hasi oldalon nyitott héj veszi körbe. Evezőcsápjukkal mozognak, 4-6 db módosult levéllábukkal szűrik ki a táplálékot a vízből, valamint ezeken vannak a kopolyúik is. Szaporodásuk során szabályszerűen váltakoznak a szűzpetékből kikelt és a kétivarú szaporodásból létrejött nemzedékek. A nőtények kétféle, nyári- és téli petéket, vagyis tartóspetéket hoznak létre. A tartóspetékből tavasszal fejlődik ki a csak nőtény egyedekből álló nemzedék. A kikelt példányok már 8 nap múlva szaporodni kezdenek. Hímek hiányában a nőtények a meg nem termékenyített nyári petékkal (szűzpetékekkel) szaporodnak, amelyek a nőtény költőüregében fejlődnek és két-három nap alatt alakulnak ki belőlük az új egyedek, amelyek szintén szaporodni kezdenek. Ősz elején megjelennek a hímek is, amelyek szintén a szűzpetékből kelnek ki. Párzás után a nőtények lerakják ezúttal a megtermékenyített tartós petéket, amelyekből tavasszal ismét a nőtényekből álló fejlődik.

A kísérlet során a vízibolhákat 100 cm<sup>3</sup> vízzel telt főzőpohárba tettük, majd 0,1 cm<sup>3</sup> tömény eugenolt adtunk hozzá (7. ábra). 5 perc után a vízibolhák már nem mozogtak, ekkor áttettük őket egy másik, tiszta vizes főzőpohárba, hogy ébredjenek fel az altatásból, de a kísérletünk kudarcba fulladt, ugyanis nem ébredtek fel. Sajnálatos módon az általunk alkalmazott eugenol koncentráció túlságosan nagy, bizonyult az állatok testtömegéhez képest és valószínűleg túlaltattuk őket. Újabb kísérletet végeztünk, amely során vízzel 1:100 arányban hígított eugenolt használtunk. A vízibolhák ezúttal 3 perc alatt teljesen lelassultak. Ekkor tettük át őket tiszta vízbe, és 5 perc alatt felébredtek, így bebizonyosodtak az alvó halról szóló cikk alapján megfogalmazott várakozásaink. Igazolni tudtuk az eugenol altató, nyugtató hatását egy, a halaknál egyszerűbb szervezeten, a vízibolhán is.



7. ábra: Vízibolhák eugenolban és tiszta vízben

A kísérletet elvégeztük mikroszkóp alatt is, hogy pontosabban megfigyelhessük az állat szervezetében az eugenol hatására lezajló folyamatokat (8. ábra). A vízibolhák majdnem teljesen átlátszóak, ezért belső szerveik mikroszkóppal részletesen, jól megfigyelhetőek. Tömény eugenolt fecskendezve a mikroszkóp alatt lévő vízibolhához (300-szoros nagyítást használva) azt tapasztaltuk, hogy néhány másodperc alatt az állat a szív működése leállt és elpusztult, míg híg eugenolt használva szívverése csak lelassult, majd új, tiszta víz cseppes



8. ábra: Vízibolhák mikroszkóp alatt

tárgylemezre helyezve visszaállt a normális szív működése.

### Kísérletek élesztőgombával

Az élesztőgomba (*Saccharomyces cerevisiae*) más néven sörélesztő az élesztőgombafélék (*Saccharomycetaceae*) családjába, a *Saccharomyces* nemzetségbe tartozó faj. A szeszgyárok és sörgyárok az áruk erjesztéséhez, valamint a kelt tészta pékáruk, kenyerek térfogatnöveléséhez szükséges sűrűélesztő gyártásához használják fel. Elsőként a szőlő héján mutatták ki. Sötét héjú gyümölcsökön is megfigyelhető, például a szilván, ahol a héj viaszanyagaiban él meg. Eukaróta sejtekből állnak, ivartalanul, sarjadzással szaporodnak. Az élesztőgomba anyagcseréje miatt kel meg a tészta. 1859-ben Louis Pasteur fedezte fel az élesztő „működési elvét”. A gomba a liszt keményítőjéből származó cukrot (vagy a tésztában lévő cukrot) használja fel anyagcseréjéhez, miközben szén-dioxidot (CO<sub>2</sub>) termel. A fejlődő szén-dioxid gáz lazítja a nyers tészta szerkezetét, gázzal telt üregek képződnek, ezzel megkeleszti a tésztát. Magas fehérje- és vitaminkoncentrációja (főleg B vitaminok) miatt segíti a bőr, a köröm és a haj regenerálását, csökkenti a koleszterinszintet és szabályozza a vércukorszintet.

Kipróbáltuk az eugenol hatását gombákon is, mivel a szakirodalomban gombaölő, azaz fungicid hatásra is találtunk utalást. Feltételeztük, hogy ezt a gombasejtek szaporodásának gátlásával igazolni tudjuk. Két főzőpohárban 1 dl tejjel és 10 g cukorral 40 °C-on felfuttattunk 10g élesztőt, azonban az egyik főzőpohárba a kísérlet elején 10 cm<sup>3</sup>, vízzel 1:100 arányban hígított eugenolt fecskendeztünk. Kezdetben a két élesztős keverék térfogata egyszerre nőtt, egészen a 60. percig, majd megkevertük, és 30 perc múlva az eugenol nélküli főzőpohárban az élesztő kétszer akkora nőtt, mint az eugenolos élesztő. Az eugenolos élesztő az eredeti térfogat kétszerese, míg az eugenol nélküli élesztő az eredeti térfogat négyszeresére nőtt (9. ábra). A kísérleti eredményeink igazolták azt a feltételezésünket, hogy az eugenol az élesztőgomba szaporodásra gátló hatással van. A kísérletet mikroszkóp alatt is meg szeretnénk figyelni, azonban ezek a vizsgálataink még jelenleg is folynak. A kísérletünk alapján azonban már most úgy tűnik, hogy az eugenol gátolja az élesztőgombák szaporodását.



9. ábra: A felfuttatott élesztő eugenol nélkül és eugenollal

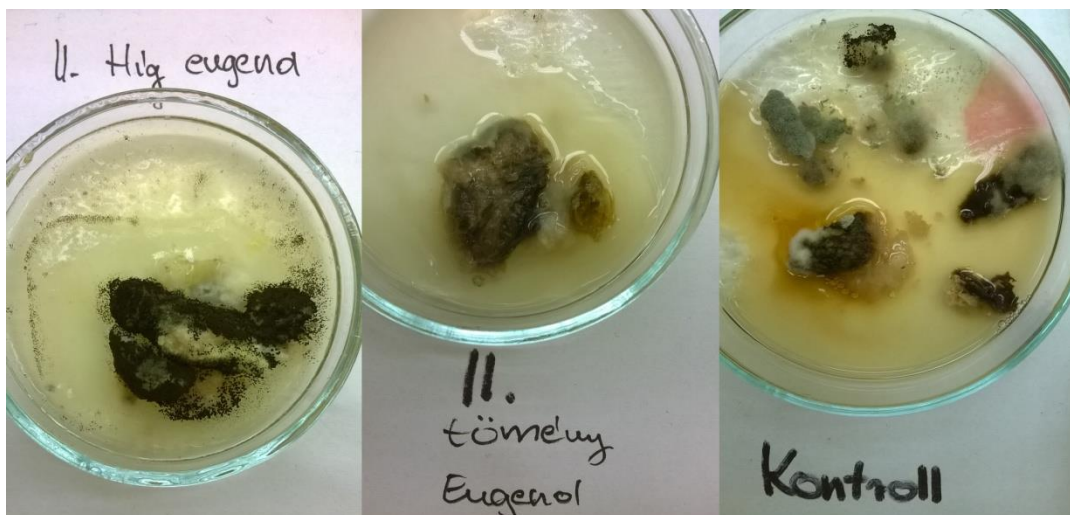
### Kísérletek penészgombákkal

Az eugenol gombaölő hatását az élesztőgombákon kívül más gombafajokon is vizsgáltuk, különböző penészgombaféléken. Az ecsetpenész (*Penicillium*) a tömlősgombák (*Ascomycetes*) osztályába, a szövedékes gombák (*Plectascales*) rendjébe tartozó nemzetség. Körülbelül 300 faj tartozik ebbe a nemzetségbe, többek között penicillint termelő, gyümölcsöket rothasztó és a camembert és a roquefort sajtok készítéséhez használt fajok. Általában sötétzöld színű telepet fejleszt, amely dohos, penészes szagú. A konidiumtartók (ivartalan szaporítósejtet -konídiumot- tartó részek) ecetszerűen ágaznak el, erről kapta a nemzetség a nevét.

A penészt egy szelet nedves kenyéren, zacskóban tenyésztettük, 3 nap múlva már láthatóak voltak a penész telepek. Áthelyeztük a penészt agar-agar hiányában zselatinból készített táptalajra. Híg, illetve tömény eugenolt fecskendeztünk a telepek közepére (10. ábra) és további 3 napig figyeltük kontroll alany mellett. A kontrollon tovább terjeszkedtek a telepek. A tömény eugenollal kezelt penésztelepek nem szaporodtak tovább, valószínűleg elhaltak, míg a híg eugenollal kezelt telep közepén, ahova fecskendeztük az anyagot, feltételezzük, hogy elpusztultak a gombák, nem fejlődtek tovább, viszont a szélén, ahova nem jutott eugenol, tovább szaporodott a penész. (11. ábra). Az eugenol nem biztos, hogy elpusztította a gombákat, de az bizonyos, hogy szaporodásukat gátolta.



10. ábra: A penész beoltása eugenollal



11. ábra: A híg és tömény eugenollal beoltott penész 3 nap után kontroll telep mellett

### A projekt további lehetőségei

Az eugenollal kapcsolatos kísérleteinket természetesen szeretnénk tovább folytatni, új lehetőségeket találni. A közeljövőben az eugenolos minta gázkromatográfiás vizsgálatát tervezzük annak megállapítására, hogy pontosan milyen mennyiségű eugenolt sikerült kinyernünk a 15 gramm szegfűszegből és hogy milyen tisztaságú volt a mintánk. A mérésre ígéretet és lehetőséget kaptunk egy kutató intézet laboratóriumában. Tervezzük az eugenol élesztő- és penészgombákra gyakorolt hatásának további vizsgálatát mikroszkópikus méretekben. További terveink még az eugenol a növények csírázására való hatását is megfigyelni. Terveink között szerepel egyéb fűszernövények illóolajának kinyerése hasonló vagy az eddigiektől eltérő módszerek alkalmazásával és a hatóanyaguk élettani hatásának vizsgálata alsóbb rendű szervezeteken.

### **Felhasznált irodalom:**

H. Barcena, P. Chen(2016): An Anesthetic Drug Demonstration and an Introductory Antioxidant Activity Experiment with “Eugene, the Sleepy Fish”. Journal of Chemical Education, 2016, 93, 202–205.

L. Bremness (1995) Határozó kézikönyvek sorozat: Fűszer és gyógynövények –85.o Egyetemi Nyomda, Budapest.

Dudich E., LoksaA. (1975): Állatrendszertan. 307-310. o. Tankönyvkiadó, Budapest.

Erdey-Grúz T.(1963): Vegyszerismeret 3. kiadás 653-654.o, Műszaki Könyvkiadó, Budapest.

Hortobágyi T. (1979): Növényrendszertan. 480. o. Tankönyvkiadó, Budapest.

J. Just, G. L. Bunton, B. J. Deans, N. L. Murray, A. C. Bissember, and J. A. Smith (2016): Extraction of Eugenol from Cloves Using an Unmodified Household Espresso Machine: An Alternative to Traditional Steam-Distillation. Journal of Chemical Education, 2016, 93, 213–216.

Straub F. B. (szerk) (1975): Biológiai lexikon 1. kötet, 43-44. o., 97. o., 120. o. 544-546.o Akadémiai Kiadó, Budapest.

Straub F. B. (szerk) (1977): Biológiai lexikon 3. kötet, 359.o. 389.o Akadémiai Kiadó, Budapest.

### **Internetes források:**

A. Brehm: Az Állatok világa. (2000). Digitális kiadás: Arcanum Adatbázis Kft.  
<http://mek.oszk.hu/03400/03408/html/2879.html>

<http://eufic.org/article/hu/artid/elesztogomba-egyedulallo-bakterium/>

<http://filantropikum.com/gombaolo-antibakterialis-hatasu-gyulladascsokekento-a-szegfuszeg-csodalatos-hatasa/>

[http://kavekorzo.hu/index.php?option=com\\_content&view=article&id=747:kavekeszites-kotyogoval-egy-csepp-toertenelem-oetek-es-hasznos-tanacsok&catid=60&Itemid=153&showall=1&limitstart=](http://kavekorzo.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=747:kavekeszites-kotyogoval-egy-csepp-toertenelem-oetek-es-hasznos-tanacsok&catid=60&Itemid=153&showall=1&limitstart=)

<http://kertlap.hu/szegfuszeg/>

<http://sorelesztopenhely.hu/index.php/soereleszto-pelyhek>

[http://tetudod.bjg.hu/phocadownloadpap/biologia/10\\_evf/biol%C3%B3gia10\\_%C3%A9leszt%C5%91gombamegfigyel%C3%A9se\\_feladatlap.pdf](http://tetudod.bjg.hu/phocadownloadpap/biologia/10_evf/biol%C3%B3gia10_%C3%A9leszt%C5%91gombamegfigyel%C3%A9se_feladatlap.pdf)

[http://blog.xfree.hu/myblog.tvn?n=idealispara&pid=116099&blog\\_cim=A%20pen%E9szfajok%20%E9s%20hat%E1suk%20a%20szervezetre](http://blog.xfree.hu/myblog.tvn?n=idealispara&pid=116099&blog_cim=A%20pen%E9szfajok%20%E9s%20hat%E1suk%20a%20szervezetre)

**Képek forrása:**

2. ábra: <http://timcsigyogynoveny.blogspot.hu/2012/12/szegfuszeg.html>

8. ábra: A képeket Dobó Zoltán készítette és bocsátotta rendelkezésünkre.