

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra zpracování dřeva a biomateriálů

Obor: Zpracování dřeva a technika v lesním hospodářství

Odolnost modifikovaného dřeva vůči vybraným druhům
dřevokazných hub a hmyzu

Durability of modified wood to selected species
of wood-destroying fungi and insects

Disertační práce

Autorka: Ing. Kristýna Šimůnková

Školitel: doc. Ing. Miloš Pánek, PhD.

Praha

2022



Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Autorka práce:	Ing. Kristýna Šimůnková
Studijní program:	Lesní inženýrství
Obor:	Zpracování dřeva a technika v lesním hospodářství
Vedoucí práce:	doc. Ing. Miloš Pánek, PhD.
Garantující pracoviště:	Katedra zpracování dřeva a biomateriálů
Jazyk práce:	Čeština
Název práce:	Odolnost modifikovaného dřeva vůči vybraným druhům dřevokazných hub a hmyzu.
Název anglicky:	Durability of modified wood to selected species of wood-destroying fungi and insects
Cíle práce:	Cílem práce je nalezení vhodných modifikací dřeva na přírodní bázi z pohledu dlouhodobé stálosti a odolnosti vůči povětrnostním vlivům a napadení dřevokazným hmyzem, houbami a plísněmi.
Metodika:	Práce bude rozdělena do několika částí. Jednou z nich bude testování odolnosti modifikovaného smrkového dřeva vůči termitům. Testovaná tělesa budou rozdělena do skupin, kdy bude k impregnaci použit esenciální olej z levandule, roztok kofeinu, Bochemit a souběžně hydrofobní ochrana. Část referenčních vzorků bude bez modifikací. Během přípravy vzorků bude jejich část vystavena umělému povětrnostnímu stárnutí a další pak vyplavování dle EN 84. Tělesa budou zkoušena dle ČSN EN 118. Část zkušebních těles bude testována na odolnost vůči dřevokazným houbám dle ČSN EN 113. V další části výzkumu budou tělesa smrku a buku modifikována souběžně 2 % roztokem kofeinu a nanočásticemi TiO ₂ v různých koncentracích a opatřeny vrchním transparentním nátěrovým systémem. Vzorky budou vystaveny umělému urychlenému stárnutí na základě ČSN EN 927-6 a poté bude na stárých površích hodnocen růst plísní. Účinnost roztoku kofeinu vůči růstu dřevokazných hub bude hodnocena také na dalších hospodářsky významných vybraných evropských druzích dřev (BO, BK).
Doporučený rozsah práce:	100 - 150 s.
Klíčová slova:	modifikace; dřevo; stárnutí; bi odolnost
Doporučené zdroje informací:	<ol style="list-style-type: none">1. EVANS, R. D.; MICHELL, A. J.; SCHMALZL, K. J. Studies of the degradation and protection of wood surfaces. Wood Science and Technology, 1992, 26.2: 151-163.2. EVANS, R. D.; THAY, P. D.; SCHMALZL, K. J. Degradation of wood surfaces during natural weathering. Effects on lignin and cellulose and on the adhesion of acrylic latex primers. Wood Science and Technology, 1996, 30.6: 411-422.3. HILL, C. A. S. Wood modification: chemical, thermal and other processes / Callum A.S. Hill. 2006. ISBN 0470021721.4. PÁNEK, M., REINPRECHT, L., HULLA, M. Ten Essential Oils for Beech Wood Protection - Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. Bioresources 2014 9(3), p. 5588-5603, ISSN 1930-21265. PTÁČEK, Petr. Ochrana dřeva. Praha: Grada, 2009, 95 s. ISBN 978-80-247-2326-6.6. REINPRECHT, L. Wood Deterioration, Protection and Maintenance, 1st ed.; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 2016; p. 376.7. SINGH, T., SINGH, A.P. A review on natural products as wood protectant. Wood Science and Technology 2012, 46: 851-870 .
Předběžný termín:	2020/21 LS - FLD - SDZ

Elektronicky schváleno: 13. 1. 2021
Ing. Radek Rinn
Vedoucí ústavu

Elektronicky schváleno: 31. 1. 2021
doc. Ing. Milan Gaff, PhD.
Předseda oborové rady

Anotace

V současné době vzrůstají požadavky na ekologicky a zdravotně méně závadné postupy ochrany dřeva vůči biologickému poškození. Zároveň je však potřebné otestovat, zdali jsou nově navržené fungicidní a insekticidní látky dostatečně účinné. Cílem práce bylo ověřit účinnost roztoku kofeinu a levandulového esenciálního oleje ve dřevě vůči dřevokazným houbám hnědé hniloby, plísním a termitům. Dílčím cílem bylo zjistit, jestli úpravy mají dopady na vybrané fyzikální a mechanické vlastnosti ošetřeného dřeva. Dřevo bylo impregnováno dlouhodobým máčením v roztocích kofeinu a levandulového oleje, ve vybraných sériích ošetřeno vrchní hydrofobní vrstvou anebo nátěrovým systémem. Následně bylo vystaveno vyplavení dle EN 84 a umělému urychlenému stárnutí v Xenotestu, případně UV-komoře s postřikem na základě EN 927-6. Vzorky bez stárnutí i stárlé byly v dalším kroku testovány vůči ataku dřevokaznými houbami, termity, respektive plísněmi dle platných standardů. Výsledky prokázaly účinnost roztoku kofeinu vůči dřevokazným houbám, termitům a plísním. Nejlepší účinnosti bylo dosaženo na smrkovém, o něco nižší na bukovém a borovicovém bělovém dřevě. Jeho vyplavení ze dřeva však dokázal zabránit pouze vrchní vícevrstvý nátěrový systém. Levandulový esenciální olej byl na smrkovém dřevě, v námi testované nižší koncentraci 5%, účinný vůči termitům. Jeho vyplavení dokázala zabránit i vrchní hydrofobní vrstva na bázi vosků a silan-siloxanů. Ošetření dřeva vybranými roztoky nemělo negativní dopad na vybrané fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva. V případě kofeinu byl potvrzen příznivý vliv na celkovou životnost vrchního akrylátového exteriérového transparentního nátěrového systému. Testované biocidní látky lze s úspěchem využít pro ochranu dřeva, které není trvale vystaveno povětrnostním vlivům, v případě dodatečného ošetření bariérovou vrstvou i v exteriéru.

Klíčová slova: modifikace, dřevo, stárnutí, bi odolnost, ochrana, kofein, levandulový esenciální olej

Annotation

At present, the requirements for ecologically and health-less harmful procedures for protecting wood against biological damage are increasing. At the same time, however, it is necessary to test whether the newly designed fungicidal and insecticidal substances are sufficiently effective. The work aimed to verify the effectiveness of a solution of caffeine and lavender essential oil in the wood against wood-destroying fungi of brown rot, mould and termites. The partial goal was to find out whether the modifications have an impact on the selected physical and mechanical properties of the treated wood. The wood was impregnated by long-term dipping in caffeine and lavender oil solutions in selected series treated with a top hydrophobic layer or coating system. Subsequently, it was exposed to leaching according to EN 84 and artificial accelerated ageing in the Xenotest or UV-chamber with spraying on the basis of EN 927-6. Samples without ageing and aged were tested in the next step against attack by wood-destroying fungi, termites or moulds according to valid standards. The results showed the effectiveness of the caffeine solution against wood-destroying fungi, termites and moulds. The best efficiency was achieved on spruce, slightly lower on beech and pine white wood. However, only the top multilayer coating system could prevent its leaching from the wood. The lavender essential oil was effective against termites on spruce wood, which we tested at a lower concentration of 5%. The upper hydrophobic layer based on waxes and silane-siloxanes was able to prevent its leaching. Treatment of wood with selected solutions did not have a negative impact on the selected physical and mechanical properties of wood. In the case of caffeine, a favourable effect on the overall life of the top acrylic exterior transparent coating system was confirmed. The tested biocidal substances can be successfully used for the protection of wood that is not permanently exposed to the weather, in the case of additional treatment with a barrier layer in the exterior.

Key words: modification, wood, aging, bioresistance, protection, caffeine, lavender essential oil

аннотация

В настоящее время возрастают требования к экологически и менее вредным процедурам защиты древесины от биологического повреждения. Однако в то же время необходимо проверить, достаточно ли эффективны недавно разработанные фунгицидные и инсектицидные вещества. Целью работы было проверить эффективность раствора кофеина и эфирного масла лаванды в древесине против дереворазрушающих грибов бурой гнили, плесени и термитов. Частичной целью было выяснить, влияют ли модификации на отдельные физико-механические свойства обработанной древесины. Древесина пропитывалась длительным погружением в растворы кофеина и лавандового масла, в выбранных сериях обрабатывалась верхним гидрофобным слоем или системой покрытия. Впоследствии он подвергался выщелачиванию согласно EN 84 и искусственному ускоренному старению в Xenotest или УФ-камере с напылением согласно EN 927-6. На следующем этапе образцы без старения и состарения были протестированы на защиту от разрушающих древесину грибов, термитов или плесени в соответствии с действующими стандартами. Результаты показали эффективность раствора кофеина против разрушающих древесину грибов, термитов и плесени. Наилучшая эффективность была достигнута на древесине ели, несколько ниже - на буке и белой сосне. Однако только верхняя многослойная система покрытия могла предотвратить ее вымывание из древесины. Эфирное масло лаванды было эффективным против термитов на еловой древесине, которую мы тестировали при более низкой концентрации - 5%. Верхний гидрофобный слой на основе восков и силан-силоксанов смог предотвратить его выщелачивание. Обработка древесины подобранными растворами не оказала отрицательного влияния на выбранные физико-механические свойства древесины. В случае кофеина было подтверждено благоприятное влияние на общий срок службы верхней акриловой системы наружного прозрачного покрытия. Испытанные биоцидные вещества могут быть успешно использованы для защиты древесины, которая не подвергается постоянному воздействию погодных условий, в случае дополнительной обработки с помощью барьерного слоя снаружи.

Ключевые слова: модификация, дерево, старение, биорезистентность, защита, кофеин, эфирное масло лаванды

Prohlášení

"Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma *Odolnost modifikovaného dřeva vůči vybraným druhům dřevokazných hub a hmyzu* vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací a doporučení školitele. Souhlasím se zveřejněním disertační práce dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby."

V Praze dne 19. 1. 2022

Ing. Kristýna Šimůnková

Poděkování

Velké poděkování patří mému školiteli, doc. Ing. Milošovi Pánkovi, PhD., za odborné vedení při zpracování této disertační práce, jeho cenné rady, předané znalosti, trpělivost a vstřícný přístup. Další poděkování patří grantu GAČR (19-02067S) a excelentnímu výzkumu EVA4.0 za finanční podporu výzkumů, které jsou součástí této disertační práce. Zároveň bych ráda poděkovala spoluautorům, kteří se podíleli na realizaci a vyhodnocení experimentů, přátelům a kolegům z Fakulty lesnické a dřevařské ČZU v Praze, za rady a slova podpory. Na závěr bych ráda poděkovala svým nejbližším - rodičům, prarodičům, partnerovi a Lucince, kteří mi dodávali sílu svou podporou v průběhu celého studia.

OBSAH

SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	10
ÚVOD	11
1 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	13
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	14
2.1 Dřevokazní činitelé.....	15
2.1.1 Abiotičtí.....	15
2.1.2 Biotičtí.....	16
2.2 Preventivní ochrana dřeva vůči bio-poškození.....	20
2.2.1 Chemická ochrana tradičními biocidy	21
2.3 Modifikační ochrana dřeva	22
2.4 Modifikace přírodními látkami	25
2.4.1 Modifikace extraktivními látkami.....	26
2.4.2 Modifikace esenciálními oleji	32
2.4.3 Výhody a nevýhody modifikací přírodními látkami.....	35
3 METODIKA	36
3.1 Použité materiály	36
3.2 Základní testy.....	38
3.3 Doprovodné testy.....	39
3.4 Statistické vyhodnocení	39
4 VÝSLEDKY	40
4.1 Kofein – Perspektivní přírodní biocid pro ochranu dřeva proti hnilobným houbám a termitům.....	40
4.2 Fungicidní aktivita methylxanthinů na základě jejich vlastností	49
4.3 Účinnost kofeinového ošetření pro ochranu dřeva – vliv druhů dřeva a hub	62
4.4 Úprava smrkového a bukového dřeva kofeinem a nanočásticemi TiO ₂ pro zvýšení odolnosti transparentního nátěru proti UV záření a plísním	77
4.5 Levandulový olej jako eco-friendly alternativa k ochraně dřeva před termity bez negativního efektu na vlastnosti dřeva	91
5 DISKUZE	109
ZÁVĚR	118
SUMMARY	121
ВЫВОД	124
DOPORUČENÍ PRO VĚDU A PRAXI	127
LITERATURA	130
PŘÍLOHY	154

SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Tabulka 1 Rozpis materiálů pro jednotlivé experimenty s odkazem na dané testy v kapitole Výsledky.....	37
Tabulka 2 Rozpis použitých dřevokazných činitelů s odkazem na testy, ve kterých byly použity v kapitole Výsledky.	38
Obrázek 1 Schématické zobrazení výzkumu	36

Poznámka: Seznam tabulek a obrázků obsahuje pouze ty, které nejsou součástí publikovaných článků v této disertační práci

ÚVOD

Změny klimatu a zhoršování životního prostředí představuje hrozbu pro celý svět. V posledních letech proto stojí nejen Evropa před velkou výzvou, která se zabývá zlepšením života a zdraví obyvatelstva a budoucích generací. V Zelené dohodě pro Evropu a ve strategii EU v oblasti biologické rozmanitosti do roku 2030 je zakotvena nová Lesní strategie EU, která se zabývá dosažením klimatické neutrálnosti snížením emisí skleníkových plynů alespoň o 55 % do roku 2030, což je stanoveno v evropském právním rámci pro klima. Iniciativa Nový evropský Bauhaus podporuje zvyšování podílu dřeva ve stavebnictví, což by mělo vést ke snížení používání fosilních zdrojů - betonových, ocelových a hliníkových konstrukcí. Tyto fosilní materiály při jejich zpracování uvolňují CO₂ do atmosféry a tím ohřívají planetu. Stavební průmysl je zodpovědný přibližně za 40 % celosvětových emisí uhlíku. Oproti tomu stromy při svém růstu oxid uhličitý z atmosféry absorbují. Dobu pohlcování uhlíku lze prodloužit v případě proměny dřevní biomasy na dřevěné produkty s dlouhým životním cyklem. To vše souvisí s efektivním oběhovým hospodářstvím. Evropská unie má proto za úkol soustředit se v následujících letech na prodlužování životnosti dřevěných výrobků, ve kterých bude uhlík vázán. Výrobky u masivního dřeva, které již nesplňují svou funkci, podléhají recyklaci, kdy se přes výrobu kompozitních materiálů, produktů chemického zpracování dřeva, dostanou do konečné fáze, kdy může být dřevo buď páleno, využíváno na biopaliva, nebo upravováno a zaoráváno do půdy. Během spalování se pak mohou škodlivé látky dostávat do ovzduší. Se zaoráváním do půdy je počítáno v plánu Zelené dohody pro Evropu. Při tomto způsobu recyklace je riziko zaorání škodlivých látek, které původně sloužili k ochraně dřeva před vnějšími vlivy.

V minulosti, kdy byly běžně používány hlavně přípravky na přírodní bázi, byla životnost takto chráněného dřeva nižší, ale nedocházelo k takovým dopadům na životní prostředí, jako tomu je po příchodu moderních materiálů. S moderními technologiemi a novými materiály se postupně přešlo k úpravám, které jsou velmi účinné v ochraně dřeva proti vnějším činitelům. Tyto úpravy ale poškozují planetu (vstřebáváním škodlivých látek do země nebo vyplavováním do vody), lidské zdraví a způsobují problém při jejich likvidaci. Byla kvůli tomu zavedena řada regulačních opatření a zároveň se změnily požadavky spotřebitelů. Je proto kladen velký důraz na ochranu dřeva co nejvíce šetrnou k životnímu prostředí a lidskému zdraví.

Dřevokazné houby a hmyz patří mezi hlavní degradační činitele dřeva. Zhoršují jak jeho estetickou kvalitu, tak hlavně jeho mechanické vlastnosti. Z výše uvedených skutečností vyplývá, že je velmi důležité nemyslet jen na ochranu dřeva, kterou bude dřevo chráněno několik následujících let, ale také na dopady na životní prostředí, ať už během výroby, používání nebo po skončení životnosti dřevěného prvku. Řada výzkumů se proto zaměřuje na testování látek přírodního původu pro ochranu dřeva. Z tohoto důvodu jsou zkoušeny insekticidní

a fungicidní vlastnosti esenciálních olejů a extraktů z rostlin. Použitím správně zvolené ochrany a údržby může dřevo vydržet téměř neomezeně dlouho.

Tato disertační práce je zaměřena na testování povrchové modifikace dřeva pomocí látek přírodního původu a zároveň k přírodě šetrných. Jednou z testovaných látek je levandulový esenciální olej, jehož fungicidní a insekticidní vlastnosti jsou známy již po staletí. Druhou látkou testovanou pro zvýšení odolnosti dřeva je kofein, jehož fungicidní vlastnost již byla potvrzena na testech otrávených živných půd. V jednom z výzkumů, který je součástí této disertační práce byla porovnána fungicidní účinnost kofeinu a jeho metabolitů, teofylinu a teobrominu, na otrávených živných půdách, proti vybraným houbám hnědé a bílé hniloby. Dále pak byly provedeny testy odolnosti proti vybraným dřevokazným houbám a hmyzu na dřevě smrku, buku a bělí borovice. Testované ochranné látky (5% etanolový roztok esenciálního levandulového oleje, 1% a 2% vodného roztoku kofeinu) byly do dřeva vpraveny dlouhodobým máčením. Na dřevě upraveném testovanými látkami byly provedeny doprovodné testy, které zjišťovaly ovlivnění mechanických a fyzikálních vlastností dřeva danou úpravou.

1 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Práce je založená na následujících vědeckých hypotézách:

1. Komerční ochranné prostředky na dřevo, které obsahují biocidní složky jsou nahraditelné biocidy přírodního původu.
2. Úprava dřeva biocidními přípravky přírodního původu nemá negativní vliv na vybrané fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva.
3. Dřevo ošetřené vybranými přírodními látkami je využitelné v exteriérových aplikacích bez kontaktu se zemí a vystaveno trvale povětrnostním vlivům.

Z hypotéz vychází následující hlavní cíl práce:

Cílem práce je nalezení vhodných modifikací dřeva na přírodní bázi z pohledu dlouhodobé stálosti a odolnosti vůči povětrnostním vlivům a napadení dřevokazným hmyzem, houbami a plísněmi.

Na základě předběžné analýzy byly vybrány kofein a levandulový esenciální olej jako zástupce alkaloidů a esenciálních olejů rostlinného původu s potenciálně kombinovaným fungicidním a insekticidním účinkem

Díličními cíli práce jsou:

1. Zjistit fungicidní a insekticidní účinnosti vybraných látek přírodního původu proti termitům a dřevokazným houbám.
2. Porovnat vliv druhu dřeva na účinnost ochrany roztokem kofeinu.
3. Zabránit vyplavení kofeinu a levandulového oleje ze dřeva.
4. Zjistit efekt modifikace na vybrané vlastnosti dřeva.
5. Porovnat rozsah využitelnosti testovaných látek přírodního původu ve srovnání s komerčním biocidem.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Dřevo je po tisíce let oblíbeným stavebním materiálem (Ramage a kol., 2017). Hlavně pro jeho všestrannost, ekologičnost, vzhled a obnovitelnost stále velmi přitahuje pozornost. Dřevo je dostupné v mnoha druzích, které se liší trvanlivostí (Homan a Jorissen, 2004). Bohužel je, jako každý biologický materiál, velmi citlivé na vlhkost, podmínky prostředí a mikroorganismy. Přírozená odolnost proti dřevokazným organismům je jednou z vlastností, které určují úroveň citlivosti dřeva na tyto organismy a je nejčastěji přisuzována přítomnosti, množství a typu extraktivních látek (Brocco a kol., 2017). Hlavními složkami dřeva jsou celulóza (40-44 %), lignin (18 až 35 %) a hemicelulózy (15-32 %). Základní prvek v těchto sloučeninách je uhlík. Díky tomu je dřevo největší zásobárnou suchozemského uhlíku (Morrell, 2008; Ramage a kol., 2017) Nicméně, právě kvůli tomuto složení je bohužel dřevo velmi citlivé na degradaci způsobenou hlavně dřevokaznými houbami (Brischke a Alfredsen, 2020; Goodell a kol., 2008). Je důležité dřevo správně chránit před externími podmínkami, kterým je vystaveno. Mnoho různých způsobů ochrany dřeva je známo už dlouho, ale až v posledních letech se kvůli klimatickým změnám, a s nimi související obavou o životní prostředí, klade stále větší důraz na ekologii. S tím souvisejí přísnější pravidla při používání toxických chemických látek spadajících do různých tříd konzervačních látek, zejména se jedná o těžké kovy, ale i jiné nebezpečné látky. V Evropě je používání konzervačních látek regulováno Biocidal Product Regulation (EU 528/2012). Nepříznivé účinky na lidské zdraví nebo ekologická rizika mohou vést k omezením nebo zákazu používání. Toto omezování může vézt k nedostatku ochranných prostředků, který lze potenciálně překonat používáním přírodních látek, které vykazují antifungální aktivitu, například éterické oleje (Moutaouafiq a kol., 2019) a stilbeny (Lu a kol., 2016), ale i jiné látky (Singh a Singh, 2012). Dalším důvodem k urychlení vývoje v oblasti ekologických úprav dřeva je zvyšující se ceny tropického dřeva s vysokou přirozenou odolností vůči biopoškození (Reinprecht, 2016). Obecně lze říci, že cílem modifikací dřeva je překonání slabých míst dřevěného materiálu a získání dřeva s žádoucími vlastnostmi (Hill, 2006). Jde o zlepšení jeho fyzikálních, mechanických nebo estetických vlastností (Sandberg a kol., 2017). Voda je důležitou součástí materiálů a biomasy v přírodním prostředí. Vlastnosti dřeva ovlivňuje přímo i nepřímo. Příjem vody je spojen se schopností dřeva odolávat napadení houbami a hmyzem. Další problém spojený se změnou vlhkosti ve dřevě je bobtnání a sesychání. Ty způsobující rozměrové změny a mají za následek degradaci nátěrových hmot, na kterých při opakujících se cyklech expanze a kontrakce, v kombinaci s dalšími faktory, např. působením tření, vznikají mikroskopické praskliny. Dřevo je neustále vystavováno sporům z hub, které, jakmile jsou pro ně vhodné podmínky prostředí, mohou klíčit (Reinprecht, 2016). Rizikem vzniku jejich působení jsou již mikrotrhliny vzniklé v nátěrech (Goodell a kol., 2020).

2.1 Dřevokazní činitelé

Dřevo je organický materiál složený z lignino-celulózového komplexu, nacházejícího se ve všech dřevěných pletivech. Tato vysoce uspořádaná struktura seskupení celulózy z mikrovláken uložených v matrici hemicelulóz a ligninu poskytuje základ mechanické pevnosti dřeva (Salmén a Burgert, 2009) a odolnost proti mikrobiálnímu napadení (Daniel, 2003). Dřevo je poměrně odolný materiál, který ale může být degradován biodegradací, stárnutím, zvětráváním a termooxidačními reakcemi (Matsuo a kol., 2011). Jeho trvanlivost vůči dřevokazným houbám a hmyzu je uvedena v Evropské normě EN 350. Organismy schopné napadat dřevo, bakterie a houby, si vyvinuly biochemické systémy, kterými jsou schopny degradovat ligno-celulózový komplex a provádět přeměnu a mineralizaci dřeva na oxid uhličitý a vodu, dále pak hmyzem, termity a mořskými živočichy. Těmto organismům dřevo slouží jako potrava, obydlí nebo kombinaci obojího. Nejdůležitějšími organismy degradujícími dřevo jsou houby rodu Basidiomycota, způsobujících bílou a hnědou hnilobu, a Ascomycota, způsobujících měkkou hnilobu a skvrny, dalšími organismy způsobujícími poškození dřeva jsou zejména termiti, plísně, bakterie, řasy a lišejníky (Stirling a kol., 2017). Kromě finančních ztrát je zároveň ohroženo lidské zdraví (Gradeci a kol., 2017).

2.1.1 Abiotičtí

Neživí činitelé mohou často způsobovat různé typy degradací, které jsou často zaměňovány za degradace způsobené houbami (Goodell a kol., 2020). Abiotičtí, neživí, činitelé jsou úzce spjati z těmi biotickými, živými. Jakmile je povrch dřeva narušen působením abiotických faktorů, které jsou spojeny s povětrnostními vlivy, jako je UV záření, vítr, vlhkost a změny teplot, je usnadněn přístup škůdcům biotickým.

Abiotické činitele tedy dělíme do tří hlavních skupin, které se mohou v praxi kombinovat:

- Termické degradace
- Atmosférické
- Chemické

Zvětrávání dřeva je nejčastějším typem nebiologické degradace u dřeva v exteriéru (Kirker a Winandy, 2014). Během vystavení dřeva UV záření je lignin narušen a přeměněn na radikálové skupiny, které přenášejí energii na hemicelulózu a celulózu, ty jsou pak snadno depolymerizovány (Evans, 2008; Hon a Feist, 1986). Toto narušení je mělké, takže nedochází k rozpadu velkých částí dřeva. Má však velmi nepříznivé účinky na přilnavost nátěrových hmot a celkový vzhled povrchu (Goodell a kol., 2020).

2.1.2 Biotičtí

Biologická degradace hraje významnou roli v koloběhu uhlíku v přírodě (Gelbrich, 2009). Rozklad dřeva v přírodě zajišťuje řada živých organismů, mezi něž patří zejména houby, hmyz, bakterie, měkkýši a koryši (Treu a kol., 2019).

Bakterie

V 60. a 70. letech se ukázalo, že dřevo se může významně rozkládat bakteriemi, a to i při extrémně nízkých hladinách kyslíku (Boutelje a Goeransson, 1975). I když většina bakterií krátkodobě nezpůsobuje znehodnocení, které vážně ovlivňuje většinu vlastností dřeva, mohou otevřít vstupní bránu pro dřevokazné organismy (Wilcox, 1970). Ukázalo se, že některé bakterie způsobují po dlouholetém působení (několik století) poškození dřeva, které vede ke ztrátě mechanických vlastností. Bakterie jsou také aktivní při dlouhodobé degradaci ponořených dřevěných základových pilířů (Elam a Björdal, 2020). Bakterie vnikají do dřeva přes parenchymatické buňky dřevných paprsků a přes pryskyřičné kanálky, kde se pak hromadí (Greaves, 1965; Reinprecht, 2016). K průniku do sousedních buněk využívají ztenčeniny. Bakterie schopné rozkládat dřevěnou buněčnou stěnu se dělí na kavitovité, tunelové a erozní (Blanchette a kol., 1990; Reinprecht, 2016; Singh a Butcher, 1991).

Hmyz

Hmyz je největší skupina v kmenu členovců (*Arthropoda*) a jsou charakterističtí článkovým tělem, kloubovými nohama a tvrdým, chitinovým exoskeletem. Na rozdíl od hub a bakterií není všudypřítomný, může však žít ve dřevě a znehodnocovat ho řadu let, než je odhalen.

Hmyz, hraje významnou roli v degradaci dřeva. Závažnost degradace závisí na typu hmyzu (Geib a kol., 2008; Shupe a kol., 2008), mechanismus a rychlost degradace pak závisí na různých charakteristikách, jako jsou tvrdost, hustota dřeva, obsah extraktů, průřez a typ ošetření. Je zdokumentována schopnost hmyzu degradovat celulózu, naproti tomu nebylo dosud zjištěno mnoho o tom, jakým způsobem je zpracováván v hmyzích střevech lignin (Geib a kol., 2008; Warnecke a kol., 2007). Hmyz používá dřevo jako obydlí a potravu. V obou případech rozkousává dřevo na malé fragmenty. Zbytky rozkousaných kusů dřeva a fekální materiál, známý jako drtinka, jsou často indikátory ukrytého napadení dřeva. Obvykle jsou v napadeném dřevě oddělené tunely, povrchové kanálky nebo vykousané zóny a ve většině případů je lze snadno rozlišit od napadení houbami (Zabel a Morrell, 2012). Dřevokaznému hmyzu postačí vlhkost dřeva okolo 10 % (Ptáček, 2009). Dřevodegradující hmyz může také nést spory dřevokazných hub na svých na krovkách nebo uvnitř těla (Jacobsen a kol., 2017; Reinprecht, 2016) a zároveň si může hmyz s houbami vytvořit symbiotický vztah (Oevering a kol., 2003). Geib a kol. (2008) testovali schopnost hmyzu degradovat lignin v jeho střevech. Zkoumali a prokázali roli hub v tomto procesu trávení.

Termiti

Termity mají obrovský význam při recyklaci dřeva a jiných rostlinných materiálů. Jsou však považováni za jednoho z nejhorších škůdců jak pro životní prostředí, tak v obydlených oblastech. V současné době je popsáno více než 3 106 druhů termitů a asi 363 je považováno za škůdce (Krishna a kol., 2013). Žijí v sociálních společenstvích, kdy v jedné kolonii žije 1000 až 2 miliony jedinců (Reinprecht, 2016). Na rozdíl od hub, které rozkládají dřevo týdně, jsou schopni degradovat dřevo v průběhu hodin (Ke a kol., 2012). Celulózu stravují pomocí enzymů se symbiotickými prvky, bakteriemi a houbami. Upřednostňují měkké jarní dřevo, čímž vytváří zajímavé vyhlodané útvary. Termiti preferují teplotu 26 – 32 °C a relativní vlhkost vzduchu 70 – 90 % (Becker, 1976).

Termiti se dělí do tří čeledí:

- Podzemní termiti – Žijí v zemi nebo v kontaktu se zemí. Napadají jak vlhké, tak suché dřevo. V konstrukčním dřevě požírají vnitřní zónu.
- Vlhkodřevní termiti – Napadají hlavně dřevo v kontaktu se zemí.
- Suchodřevní termiti – Napadají vzduchsuché dřevo, kde požírají vnitřní zónu. Dokáží ovšem požírat i vlhké dřevo poškozené hnilobou (Reinprecht 2016).

Mezi prvními výzkumy testujícími přírodní alternativy ochrany dřeva proti termitům byl výzkum Trikojus (1935), který testoval celulóžové bloky ošetřené kyselinou citronelovou.

V novějších pracích Shanbhag a kol. (2013) testovali odolnost 20 různých dřevin na odolnost proti termitům. Objevíli významnou korelaci mezi hustotou, obsahem celulózy, ligninu a fenolů a degradací termity. S vyšším obsahem ligninu a fenolů se zvyšovala odolnost proti termitům. Naopak s vyšším obsahem celulózy bylo dřevo více napadeno. Shiny a kol. (2019) testovala působení nanočástic v ochraně dřeva proti termitům. Kovové nanočástice byly syntetizovány pomocí rostlinných extraktů. Výzkum počítal s biocidními vlastnostmi nanočástic spojených s efektem rostlinných extraktů. Ve výzkumu Akhtari a Nicholas (2013) byla porovnávána účinnost dřeva ošetřeného částicemi ZnO, CuO a rozpustným aminem CuO proti podzemním termitům. Výsledky ukázaly účinnost mikronizovaného oxidu mědi i oxidu zinečnatého v ochraně proti degradaci termity. Přičemž mikronizovaný oxid mědi dosáhl lepších výsledků.

Houby

Rozpad dřeva je z velké části způsoben houbami, které spadají do kategorií v závislosti na vzhledu degradovaného dřeva. Nejefektivnějšími dřevokaznými činiteli jsou bílá a hnědá hniloba způsobené houbami třídy *Basidiomycetes*.

Houby hrají v ekosystému tři hlavní role. Některé (patogenní) houby napadají živé rostliny a způsobují u nich nemoci. Další (mutualistické symbionty) tvoří symbiózu s jejich hostiteli. Největší skupinou jsou saproby, které rozkládají

rostlinné zbytky a díky současnému uvolňování oxidu uhličitého podporují fotosyntézu v zelených rostlinách (Zabel a Morrell, 2012). Druhy hub bílé hniloby, které měly schopnost rozkládat lignocelulózu, se vyvinuly před 280 miliony lety, v rámci tříd hub Agaricomycetes (Floudas a kol., 2012). Pokud jde o Eukaryotické houby, spadající do podříše Dikaryi, zahrnují dva řády, *Bacidomycota* a *Ascomycota*, které hrají významnou roli v degradaci dřeva. Jsou jedním z nejnebezpečnějších organismů napadajících dřevo. Jejich základním uzpůsobením je rozklad dřeva. Nejsou totiž schopné přeměňovat CO₂ ve vlastní stavební jednotky, proto se živí jinými organismy, na kterých parazitují a odebírají z nich stavební jednotky uhlíku (Reinprecht, 2016) a dále pak dusíku, který doplňuje primární sacharidovou stravu. Poměr uhlíku a dusíku je ve dřevě extrémně vysoký. Dusík je limitujícím faktorem pro růst parazitických hub (Barron, 2003).

Houby se dále dělí na stopkovýtrusé a vřeckaté. Stopkovýtrusé se rozmnožují tak, že praskne vnější strana výtrusu a vyrůstá z něj houbové vlákno (hyfa). Těla dřevodegradujících hub jsou složená z řad těchto malých vzájemně propojených trubicových buněk. Hyfy jsou přizpůsobené k pronikání, vnějšímu trávení, vstřebávání a metabolizaci široké škály organických materiálů (Zabel a Morrell, 2012). Hyfa se rozrůstá a vytváří primární podhoubí. Při setkání dvou primárních podhoubí se vytváří podhoubí sekundární (mycelium). Toto podhoubí je dvojjaderné a může vytvořit plodnici, na které je hymenium, kde se vytvářejí nové výtrusy (Ptáček, 2009). U všech hub se vytvářejí spory (mikroskopická semena) nebo jiné malé fragmenty hub, které musejí být transportovány buď vzduchem, vodou nebo jiným organismem (například hmyzem) na jiný kus dřeva, kde pak může dojít k nové kolonizaci hub (Goodell a kol., 2020). Pro zahájení kolonizace dřeva houbami jsou dále potřebné podmínky: voda (obsah vlhkosti ve dřevě nad 20 %), kyslík, teplota mezi 15 a 45 °C a zdroj živin. Důležitou prevencí je zde konstrukční ochrana, která zabrání tomu, aby dřevo dosáhlo dostatečného obsahu vlhkosti. V některých situacích, kdy je konstrukční ochrana špatná, nebo je dřevo vystaveno vlhkosti, vzhledem k jeho využití, je potřeba použít dodatečný prostředek jako prevenci proti napadení houbami (Hill, 2011).

Všechny dřevokazné houby lze rozřadit z hlediska způsobu degradace do tří fyziologických tříd: bílá hniloba, hnědá hniloba a měkká hniloba (Eriksson a kol., 2012; Kirk a Highley, 1973; Otjen a Blanchette, 1986). Všechny z nich degradují strukturální polymery buněčné stěny dřeva, což má za následek ztrátu pevnosti dřeva. Dřevo může být také napadeno dřevozbarvujícími houbami a plísněmi, které nezpůsobují strukturální poškození, ale nepříznivě ovlivňují estetickou hodnotu dřeva (Goodell a kol., 2008; Brischke a Alfredsen, 2020).

Houby bílé hniloby

Houby bílé hniloby jsou jedinými organismy schopnými zcela mineralizovat všechny složky dřeva vylučováním enzymatického systému, který zcela rozkládá celulózu i lignin (Martínez a kol., 2005; Rodríguez-Couto, 2017). Obvykle tedy zničí všechny polymerní složky dřevěných buněčných stěn, i když rychlost, jakou

to dělají, se u jednotlivých složek liší. Dělí se na selektivní (preferenční), které nemají schopnost účinně degradovat celulózu, nejprve rozkládají hemicelulózu a lignin, což vede k rozsáhlé defibrilaci kvůli rozpuštění střední lamely, a neselektivní (současné), které odstraňují lignin a strukturní uhlohydráty podobnou rychlostí, což vede k homogennímu rozpadu buněčné stěny (Blanchette, 1985, Blanchette, 1995, Enoki a kol., 1988, Fackler a Schwanninger, 2012, Pérez a kol., 1993, Worrall a kol., 1997). Jejich název se odvíjí od vzhledu dřeva napadeného těmito houbami, které má následkem odstranění ligninu vybledlý vzhled (Pointing, 2001). Bílá hniloba obvykle degraduje listnaté dřeviny více než jehličnaté (Enoki a kol., 1988; Tuor a kol., 1995). Houby bílé hniloby jsou v jedné skupině spíše z pohledu fyziologického než taxonomického (Pointing, 2001). Nejznámějšími houbami tohoto druhu hniloby jsou basidiomycety a některé houby rodu ascomycete, které jsou také schopny rozkladu typu bílé hniloby (Eaton a Hale, 1993). Houby bílé hniloby vylučují jeden nebo více extracelulárních enzymů, které jsou nezbytné pro degradaci ligninu. Tyto enzymy slouží k mineralizaci ligninu (Wesenberg a kol, 2003).

Houby hnědé hniloby

Hnědá hniloba je neformální název pro nejběžnější a nejzávažnější typ rozkladu vyskytujícího se na dřevařských výrobcích (Goodell a kol., 2020; Illman, 1991; Ritschkoff, 1996). Rozpad hnědé hniloby je velmi destruktivní typ rozkladu řezaného jehličnatého dřeva. Hnědá hniloba působí ve vlhkém prostředí a napadá většinou pouze buněčnou stěnu S₂ (Reinprecht, 2016). Houby hnědé hniloby selektivně rozkládají uhlohydráty (depolymerizují polysacharidy-hemicelulózy a celulózy buněčných stěn), zanechávají lignin v podstatě nestrávený, i když vysoce modifikovaný demetylací a oxidací jako amorfni hnědý zbytek (Enoki a kol., 1998; Fackler a Schwanninger, 2012; Green a Highley, 1997; Hyde a Wood, 1997; Pérez a kol., 1993; Reinprecht, 2016; Worrall a kol., 1997). V důsledku toho napadené dřevo ztmavne, zmenší se a rozpadá se na kousky ve tvaru kostek, což vede k rychlému selhání dřevěných konstrukcí (Gierlinger a kol., 2004).

Houby měkké hniloby

Měkká hniloba je způsobena spíše houbami příbuznými s plísněmi, podle definice ji způsobují askomycety a deuteromycety (Daniel a Nilsson, 1997). Běžně se vyskytuje hlavně ve vlhkém prostředí, v kontaktu se zemí, ale může se nacházet i v místech se střídavým výskytem vlhkosti a sucha (Highley, 1999). Rozkládají postupně všechny polymerní složky dřeva, zejména však celulózu a hemicelulózy (Reinprecht, 2016).

Dřevozbarvující houby

Nezpůsobují výrazné mechanické poškození dřeva, jen mírně snižují rázovou houževnatost v ohybu. Mohou usnadnit vstup dřevokazným houbám. Napadají většinou pouze bělové dřevo s dostatečnou vlhkostí. Pronikají pak hlouběji do dřeva, kde dřevo zbarvují vylučováním pigmentů substrátovým

myceliem. Zbarvení dřeva může být modré, šedé, hnědé, červené, zelené, žluté, fialové nebo černé, podle druhu houby a složení substrátu (Kržišnik a kol., 2018; Ptáček, 2009, Reinprecht 2016; Zink a Fengel, 1988).

Plísně

Některé plísně jsou viditelné díky pigmentům, které produkují hyfy a spory, jiné plísně tento pigment postrádají. Barva pigmentů závisí na druhu plísně, dále pak na podkladovém materiálu a růstové fázi (Eagen a kol., 1997; Gadd, 1980). Zhoršují estetický vzhled, ale nemění pevnost a tvrdost dřeva. Negativně působí na životní prostředí a zároveň ztěžují některé technologické operace zpracování dřeva. Zhoršují „dýchání“ dřeva, čímž zamezují pohybu vody z/do dřeva. Dřevo s vyšší vlhkostí pokryté plísní je poté snadněji napadnutelné jinými biologickými škůdci. V některých případech ovšem plísně produkují látky, které zabraňují v růstu nebezpečnějšího škůdce dřeva (Ananthapadmanabha a kol., 1992; Phillips-Laing a kol., 2003). Největším nebezpečím představují mykotoxiny, které plísně vytváří. Ty způsobují zdravotní problémy u lidí i zvířat (Betina a kol., 1989). *Aspergillus niger* a *Aspergillus flavus* produkují karcinogenní aflatoxin. Jiné mykotoxiny způsobují např. kožní alergie, poškození dýchacích cest nebo snížení celkové imunity (Ashiq, 2015; Reinprecht, 2016).

Nejčastější plísně na dřevě:

- *Alternaria alternata* - Hnědé nebo tmavší skvrny,
- *Aspergillus niger* – Bílé vatovité mycelium-později tmavohnědé až černé,
- *Aspergillus amstelodami* – Žlutozelené nižší porosty,
- *Paecilomyces variotti* – Žlutohnědé až tmavoolivohnědé povlaky,
- *Penicillium brevicompactum* – Žlutozelené sametové porosty,
- *Penicillium cyclopium* – Modrozelené povlaky s bílým okrajem,
- *Trichoderma viride* – Zelené porosty s kokosovou vůní, díky produkci antibiotika gliotoxin potlačuje růst hub (Ptáček, 2009; Reinprecht, 2016).

2.2 Preventivní ochrana dřeva vůči bio-poškození

V posledních desetiletích bylo dosaženo výrazného vývoje v oblasti úpravy a ochrany dřeva. Lze to připsat zvýšenému zájmu o životní prostředí, stoupající poptávce o vysoce kvalitní dřevařské výrobky a rostoucím cenám tropických dřevin. Z tohoto důvodu vznikla řada technik modifikace dřeva, ať už chemické, impregnační nebo tepelné (Mantanis, 2017). Přirozená odolnost dřeva je závislá na mnoha faktorech, jedním z nich je obsah extraktivních látek, mezi které se řadí taniny, terpeny a další (Celimene a kol., 1999; Krutul a kol., 2014; Reyes Chilpa a kol., 1998; Windeisen a kol., 2002).

Fungicidy

Jsou to organické (krezoty, organokovy, N-organodiazéniumdioxidy, kovy, kvarterní amóniové sloučeniny, chlórované uhlovodíky, karbamáty, ditiokarbamáty, dikarboximidy, deriváty močoviny, sulfonamidy, 8-hydroxychinolín, deriváty 1,2,4-triazolu, deriváty izotiazolónu, deriváty furanu, polymerní alkylfenolové polysulfidy, dřevní ocet, rostlinné oleje, talový olej, chitosan, dřevní extrakty a další) nebo anorganické (rtuť, arzén, měď, zinek, stříbro, fluoridový anion, bór a další) látky, přírodního nebo syntetického původu. Potlačují, až úplně zastavují, životní aktivitu hub. Mohou působit širokospektrálně na všechny druhy dřevokazných hub, nebo se zaměřovat jen na plísně, houby měkké hniloby apod. (Reinprecht, 2016; Stirling a Temiz, 2014) Jejich mechanismus závisí na jejich chemické struktuře a bioaktivních funkčních skupinách (González-Laredo a kol., 2015)

Insekticidy

Jsou používány proti hmyzu, který usmrcují nebo odpuzují. Mohou působit preventivně i likvidačně. Preventivní insekticidy chrání dřevo před kladením vajíček a zabraňují vývoji vajíček a larev. Podle chemické struktury se dělí na anorganické, které jsou známé již několik desítek let (v minulosti byl používán chlorid rtuťnatý, sloučeniny flóru, stále se používají sloučeniny arzenu a bóru), a organické. Jako organické insekticidy jsou často používány organické fungicidy (krezotový olej, chlórované naftaleny nebo kvarterní amóniové sloučeniny), dále pak chlórované uhlovodíky, organofosfáty, karbamáty, pyretroidy a některé heterocykly (Reinprecht, 2016; Stirling a Temiz, 2014).

2.2.1 Chemická ochrana tradičními biocidy

Slouží ke zvýšení přirozené trvanlivosti dřeva a zvyšují odolnost vůči biologickým a abiotickým činitelům. Jsou to přírodní a v dnešní době hlavně syntetické chemické látky. Prostředky na ochranu dřeva obsahují jednu či více účinných látek, dále pak látky průvodní. Účinné látky jsou baktericidní (proti bakteriím), fungicidní (proti dřevokazným houbám), insekticidní (zabraňují hmyzu požírat dřevo nebo likvidují hmyz v již napadeném dřevě), dále pak retardéry hoření, inhibitory povětrnostní a chemické koroze (Reinprecht, 2016). Při výběru ochrany je potřeba zohlednit požadované vlastnosti - toxikologické a ekologické parametry, aplikační vlastnosti, přípravu dřeva před ošetřením, aplikaci ochrany. Chemická ochrana se používá především na dlouhodobou preventivní ochranu (Reinprecht, 2016). Konvenčně používané, účinné, konzervační látky jsou běžně založené na biocidech, jako je měď, chrom a arsen, krezoty, soli boru nebo organické sloučeniny (Crawford a kol., 2000; Humphrey, 2002; Peylo a Willeitner, 2001).

Mnoho druhů dřev odolává příjmu ochranných prostředků, které je potřeba k dosažení dostatečné ochrany dostat dostatečně hluboko a rovnoměrně do dřeva (Kjellow a Henriksen, 2009; Militz a Homan, 1992; Pánek a Reinprecht, 2008). Hlavním důvodem snížené schopnosti přijímat kapaliny je anatomická

stavba dřeva. V živém stromě se voda s živinami pohybuje tracheidami a cévami, které jsou vzájemně propojené tečkami a dvojtečkami. Při pokácení stromu a následném vysychání dřeva se tyto průchody uzavírají a často jsou ucpány tyly, pryskyřicemi, monoterpeny a dalšími extraktivními látkami. Tyto látky se dále ukládají v buněčných stěnách a lumenech a brání tak transportu kapalin (Bauch a kol., 1974).

2.3 Modifikační ochrana dřeva

Při modifikaci dřeva se záměrně mění struktura dřeva, s cílem zlepšení jeho vlastností (Reinprecht, 2016). Techniky ochrany dřeva jsou velmi důležité k ochraně před biologickou degradací (Kumar, 2007). Trh s modifikovaným dřevem se v posledních letech podstatně rozrostl, zejména v Evropě. Tento zvýšený zájem částečně souvisí s omezením používání toxických konzervačních látek v důsledku ekologických problémů, zdravotních rizik, stejně jako potřebě snížení potřeby údržby dřevěných výrobků, které jsou určeny hlavně pro vnější použití. Modifikací se překonávají slabé stránky materiálu – odolnost vůči vlhkosti, nízká rozměrová stabilita, tvrdost a odolnost proti opotřebení, nízká odolnost proti biologickým degradacím - houbám, broukům, termitům, a nízká odolnost vůči UV záření. Modifikace se zároveň používají ke zlepšení estetických vlastností (Sandberg, 2017).

Modifikační proces dřeva je termín zahrnující použití chemických, mechanických, fyzikálních nebo biologických metod ke změně vlastností materiálu (Sandberg a kol., 2017). Modifikace může výrazně změnit důležité vlastnosti dřeva včetně biologické trvanlivosti, rozměrové a UV stability a tvrdosti (Homan a Jorissen, 2004). Hlavními chemickými modifikacemi používanými na evropském trhu jsou acetylace, furfurylace, impregnační úpravy různými polymery, dále pak termicko-hydrologické a termicko-hydrologicko-mechanické zpracování. Chemické procesy mají díky velmi rozsáhlé škále chemických činidel nejpočetnější množství druhů procesů. Samotná termická úprava využívá k úpravě pouze teplo a vodu (Sandberg a kol., 2017).

Acetylace – esterifikace

Při acetylaci dochází k chemické reakci mezi hydroxylovými skupinami polysacharidů dřeva s molekulami acetanhydridu (Jebrane a kol., 2011). Reakce probíhá obvykle v kapalně fázi po prvotní impregnaci dřeva. Acetylace dřeva za použití anhydridu kyseliny octové byla nejprve generována jako reakce v kapalně fázi (Rowell, 1983). Tato reakce tehdy byla iniciována za použití acetanhydridu katalyzovaného chloridem zinečnatým nebo pyridinem. Od té doby bylo testováno několik dalších katalyzátorů, včetně octanu sodného, kyseliny draselné, síranu močovino-amonného, jak kapalnými, tak parními způsoby (Hill, 2006; Rowell, 1983). Většina acetylačních reakcí je dnes realizována bez použití katalyzátoru (Brelid, 2000; Mantanis, 2017; Rowell, 2016). Reakce acetanhydridu s dřevními polymery vede k esterifikaci hydroxylových skupin v buněčné stěně, za vzniku vedlejšího produktu, kyseliny octové. Tento vedlejší produkt je většinou odstraňován z modifikovaného dřeva. Stejně jako nemodifikované dřevo

obsahuje acetylované dřevo pouze uhlík, vodík a kyslík a neobsahuje žádné toxické složky (Hill, 2006).

Peterson a Thomas (1978) ve své práci uvádějí, že hlavním ochranným účinkem acetylce je inhibice růstu hub. Pronikání hyf buňkami acetylovaného dřeva přestává být chemickým procesem a k průniku docházelo silou hyf. Při srovnání průběhu kolonizace a spotřeby holocelulózy hnilobnými houbami v acetylovaných dřevěch se zjistilo, že aktivita hub bílé hniloby, enzymatický rozklad ligninu závisí na předchozím nebo současném rozkladu sacharidů.

Ve výzkumu Rowell (2016) se se zvyšujícím obsahem vázaného acetylu zvyšovala odolnost dřeva vůči hnilobě a houbám hnědé a bílé hniloby. Což je vysvětleno sníženým obsahem vlhkosti buněčných stěn pod hodnotu potřebnou pro růst hub.

Furfurylace

Furfurylace je prováděna impregnací dřeva směsí furfurylalkoholu a katalyzátorů a poté je zahříváním aktivována polymerace. Furfurylalkohol je kapalina vyrobená ze zemědělských odpadů, jako je cukrová třtina a kukuřičné klasy. Účelem furfurylace je zlepšení odolnosti proti biologické degradaci a zvýšení rozměrové stability. Polymerace furfurylalkoholu ve dřevě je komplexní chemická reakce. Zůstává otázkou, zda je furfurylace procesem chemické modifikace. Někteří vědci se domnívají, že zahrnuje proces chemické modifikace, protože furfurylalkoholový polymer reaguje s sebou a s ligninem v buněčných stěnách (Gérardin, 2016; Lande a kol., 2008; Li a kol., 2016; Nordstierna a kol., 2008). Furfurylalkoholové komplexy jsou tedy převážně uloženy v dřevěných dutinách a buněčných stěnách. Furfurylalkoholový polymer uvnitř buněčné stěny zabírá část prostoru, který je normálně naplněn molekulami vody, když dřevo bobtná ve vlhkých podmínkách (Lande a kol., 2008). Furfurylace poskytuje dřevu vysokou úroveň ochrany proti biologickému rozkladu, aniž by se jednalo o biocidní ošetření (Lande a kol., 2004). Nevýhodou furfurylovaného dřeva je jeho tmavší barva (Reinprecht, 2016).

DMDHEU

Úprava je založena na zesíťování DMDHEU (1,3-dimetylol-4,5-dihydroxyetyl-močovina) se sloučeninami dřeva a jejich samopolykondenzací. Impregnace způsobí trvalé zvětšení buněčné stěny, které vede k větší rozměrové stabilitě (Krause a kol., 2008; Militz, 1993). Zároveň se úpravou získává vyšší odolnost vůči bílé a hnědé hnilobě (Kurt a Tomak, 2019; Verma a kol., 2009b).

Termická úprava

Tepelná modifikace je ekologicky šetrná technologie (Rowell a kol., 2009; Tjeerdsma a kol., 2000). Jde o fyzikálně chemický proces, založený na chemické degradaci polymeru dřeva přenosem tepla, při kterém jsou částečně změněny strukturní charakteristiky a vybrané vlastnosti (Candelier a kol., 2016; Reinprecht, 2016). Proces tepelné modifikace významně ovlivňuje chemickou konfiguraci

dřevěné matice (Herrera, 2018b). Tepelné zpracování při teplotách od 160 do 220 °C způsobuje degradaci chemického složení ligninu a hemicelulóz (Lekounougou a Kocaeffe, 2014; Poncsák a kol., 2006). Zároveň ale dochází k odpařování extraktivních látek (Hill, 2006). Během tepelného zpracování se snižuje hygroskopicitu materiálu, čímž se zvyšuje rozměrová stabilita materiálu, dále se pak zvyšuje trvanlivost (Hill, 2006; Reinprecht 2016). Druhy dřeva označované před úpravou jako netrvanlivé nebo málo odolné proti dřevokazným houbám (podle EN 350-2 řazeny do 5. nebo 4. třídy) jsou po tepelném zpracování při 180-220 °C řazeny do skupiny středně odolné nebo trvanlivé (3. nebo 2. třída). Díky těmto změnám je termicky upravené dřevo vhodné do exteriéru, kde je vystaveno cyklickým změnám počasí a vlhkosti (Gérardin, 2016; Herrera, 2018a; Niemi a kol., 2010). Při tepelné modifikaci dřevo tmavne, získává „exotický vzhled“, čímž se zvyšuje jeho ekonomická hodnota (Chen a kol., 2012; Sandberg a kol., 2013). Toto ošetření však mění povrchové charakteristiky a může tak ovlivnit životnost povrchových úprav, které jsou nezbytné pro udržení vlastností povrchu (Herrera, 2015). Dřevo může být zpracováno pouze tepelně nebo s pomocí přidaných chemikálií (Homan a Jorissen, 2004; Lee a kol., 2018).

- **ThermoWood** – Výroba probíhá ve třech etapách. Při první se v sušárně rychle zvýší teplota na 100 °C, poté se pozvolna postupuje až na 130 °C. Sušícím médiem je zde vzduch nebo pára. Dřevo je vysušeno do nulové vlhkosti. Během druhé fáze je teplota zvyšována na 185 až 215-230 °C po dobu 2 až 3 hodin. Tyto parametry jsou dány požadavky na klasifikační třídu termodřeva. Ve třetí fázi je upravené dřevo postupně ochlazováno (Jones a kol., 2006).
- **PLATO proces** – Proces probíhá ve čtyřech etapách. Během první etapy, která trvá 4 až 5 hodin, je čerstvé nebo vzduchosuché dřevo termicky upravováno, při teplotě 150 až 190 °C, za zvýšeného tlaku 0,6 až 1 MPa, párou nebo horkým vzduchem. Následně se dřevo 3 až 5 dnů suší na přibližnou vlhkost 8 až 10 %. Poté se dřevo 12 až 16 hodin vytvrzuje, za omezeného přístupu vzduchu, při teplotě 150 až 190 °C. Závěrem probíhá vlhčení na 4 až 6 %.
- **OHT proces** – Termická úprava je vykonávána v impregnačním kotli v médiu horkého oleje. Teplota oleje se pohybuje okolo 200 až 220 °C. Nejvíce je používán olej lněný. Ve dřevě se během této úpravy udržuje jen malé množství kyslíku, čímž jsou zamezeny nežádoucí termooxidační procesy. Olej vnikající do dřeva ho postupně zahřívá.
- **Retifikační proces** – Postupné zvyšování teploty na 210 až 260 °C probíhá v inertním prostředí dusíku. (Reinprecht, 2016)

Jeden z prvních výzkumů na odolnost houbám u termicky upraveného dřeva provedl Stamm a kol. (1946). Odolnost vůči hnilobě byla tehdy připsána buď snížené hygroskopicitě materiálu, což zabránilo dostatečné vlhkosti ve struktuře buněčných stěn nebo chemickou změnou ve dřevě, které sníží náchylnost dřeva k napadení houbami.

Z novějších prací ke stejnému závěru došli i Kamdem a kol. (2002), kteří ve svých závěrech připsali zvýšenou biologickou odolnost termicky upraveného dřeva nízkému obsahu rovnovážné vlhkosti. Podle výzkumu Wang a Coopera (2005) může povrch modifikovaný OHT pomocí sójového nebo palmového oleje lépe odolávat i plísním, ale někdy bývá jejich odolnost plísním velmi špatná (Kartal, 2007). Bohužel, povrch termodřev vystavený povětrnostním vlivům může být velmi rychle degradován (Tolvaj a kol., 2014).

2.4 Modifikace přírodními látkami

V dnešní době je kladen důraz hlavně na ekologickou ochranu dřeva, která je předmětem rozsáhlých výzkumů, které zahrnují několik různých přístupů. Prvním z nich je využívání hydrofobizačních činidel, jako jsou pryskyřice, vosky a oleje přírodního nebo živočišného původu k regulaci vlhkosti dřeva (González-Laredo a kol., 2015; Humar a Lesar, 2013; Lacić a kol., 2014; Lee a kol., 2018; Patachia a Croitoru, 2016; Salem a kol., 2016a; Terziev a Panov, 2011; Yang a Clausen, 2007). Dále je pak snaha využít přírodní sloučeniny s biocidním účinkem, díky kterému bude prodloužena životnost dřeva (Bahmani a Schmidt, 2018; Demirel a kol., 2021; González-Laredo a kol., 2015; Hussain a kol., 2013; Pánek a kol., 2014; Singh a Singh, 2012; Teacã a kol., 2019; Verma a kol., 2009a; Xie a kol., 2017; Xu a kol., 2013; Yingprasert a kol., 2015). Inovativní metody se pak zaměřují na použití biologických kontrolních činidel, tedy mikroorganismů, které působí jako antagonisti růstu dřevokazných hub (Bruce a King, 1983; Bruce a kol., 2000; Croan a Highley, 1994; Elad a kol., 1983; González-Laredo a kol., 2015; Highley a Ricard, 1988; Mai a kol., 2004; Morris a kol., 1986; Poohphajai a kol., 2021; Score a kol., 1998; Susi a kol., 2011). V rámci snahy o vyvinutí ekologické a zároveň účinné technologie ochrany dřeva je pozornost zaměřena na látky přírodního původu, jako jsou přírodní dehty, dřevné oleje, třísloviny a přírodní extrakty (González-Laredo a kol., 2015).

Oleje a jiné deriváty byly používány pro zlepšení vzhledu a ochranu dřevěných výrobků již od středověku. Například lněný olej je používán jako složka barev a laků, kde slouží jako účinný organický biocid, zejména v kombinaci s jinými organickými produkty s aktivními složkami. V posledních letech se ukázalo, že některé oleje jsou účinné při zachování organických biocidů ve dřevě, a tím zvyšují účinnost (Singh a Singh, 2012). S příchodem účinnějších syntetických a anorganických směsí, které se ukázaly jako efektivnější, se jejich používání stalo méně atraktivní. V posledních letech se ovšem k jejich používání vrací, hlavně díky jejich zdravotní nezávadnosti, biologické šetrnosti a toxicitě syntetických materiálů (Chittenden and Singh, 2011). Oleje získané z biomasy mají široký rozsah názvů, jako je pyrolýzový olej, bio-olej, pyrolýzní kapalina, bio-ropný olej, biopalivo, dřevné kapaliny, dřevní oleje nebo destiláty ze dřeva a stávají se potenciálem jako inovativní konzervační prostředky na ochranu dřeva (Kartal a kol., 2011; Okutucu a kol., 2011; Singh a Singh, 2012; Temiz a kol., 2010).

Sloučeniny nalezené v bio-olejích byly rozděleny do pěti kategorií:

- hydroxyaldehydy,
- hydroxyketony,
- cukry a dehydrované cukry,
- karboxylové kyseliny,
- fenolické sloučeniny.

Oleje se používají také v kombinaci s teplem zpracováním (Lee a kol., 2018). Působí zároveň jako zábrana v přístupu vlhkosti, souběžně také jako ochrana dřeva proti plísním a houbám

V dnešní době je lněný olej primární složkou mnoha olejových barev, laků a mořidel, kterým dodává ochrannou funkci (Yang, 2009). Samotný lněný olej je ale náchylný na znehodnocení plísněmi. Velmi často se proti kombinuje s přírodními extrakty. Lyon a kol. (2007a, 2007b) smísili lněný olej s kyselinou boritou a zvýšili tak celkovou účinnost proti termitům a zároveň snížili vyluhovatelnost boru.

Lee a kol. (2018) vypracovali přehled účinnosti kombinací tepelného zpracování s rostlinnými oleji. Závěrem hodnotí oleje jako vhodné médium pro ohřev s tím, že jejich účinnost je velmi závislá na použitém oleji, typu úpravy a druhu dřeva. U dřeva ošetřeného olejem dochází ke zvýšení odolnosti proti vlhkosti a s tím i ke zlepšení odolnosti proti houbám, u odolnosti proti termitům vycházeli rozporuplné výsledky.

Vosky jsou dobře známé pro svou schopnost zvyšovat odolnost dřeva proti vodě (Lesar a kol., 2011), tím je zvýšena i odolnost proti biopoškození (Humar a Lesar, 2011; Lesar a Humar, 2013).

Mezi nejčastěji používané pryskyřice k ochraně dřeva patří šelak, kalafuna a damara. Dalšími pryskyřicemi známými pro své dobré konzervační vlastnosti jsou kopálové pryskyřice, benátský terpentýn, benzoe, masticha a sandarac (Teacá a kol., 2019).

2.4.1 Modifikace extraktivními látkami

Využití přírodních extraktů z rostlin nebo hub bylo zkoumáno v průběhu historie a staly se nejstaršími prostředky k ochraně dřeva. V minulosti bylo použití těchto přírodních výtažků omezeno z ekonomických důvodů, kdy na trh přišly levnější varianty ochrany dřeva chemickou cestou (Freeman a kol., 2003).

Výzkumy jsou velmi často zaměřeny na testování odolnosti dřeva upraveného extrakty z odolných druhů dřev (Brocco a kol., 2017; Hart, 1989; Hashemi a Latibari, 2011), z jejich kůry (Tascioglu a kol., 2012; Tascioglu a kol., 2013), z rostlin (Barbero-López a kol., 2018; Bi a kol., 2019; Cheng a kol., 2008; Kwaśniewska-Sip a kol., 2018; Kwaśniewska-Sip a kol., 2019; Kwaśniewska-Sip a kol., 2021; Salem a kol., 2016b; Wang a kol., 2005; Xie a kol., 2017).

Je znám pozitivní účinek extraktivních látek dřeva, taninů, na jeho ochranu. Taniny se ale nenachází pouze ve dřevě a jeho kůře, ale také v ovoci a listech rostlin (Hassanpour a kol., 2011; Montes-Ávila a kol., 2017).

Extrakty z rostlin

Běžnými způsoby získávání extraktů z rostlin jsou pyrolýza, extrakce rozpouštědlem nebo vodou. Způsob extrakce také ovlivňuje účinnost extraktů proti cíleným škůdcům

Kofein

Jde o alkaloid ze skupiny methylxantinů, který je přirozeně produkován řadou rostlin. Těmi nejnámějšími jsou pak káva, čaj, maté a guarana (Ashihara a Crozier, 2001). Kofein v těchto rostlinách slouží jako jejich chemická obrana.

Arora a Ohlan (1997) stanovovali citlivost deseti dřevokazných hub na kofein a extrakty z kávy a čaje pomocí testů *in vitro*, popsanych v Bragulat a kol. (1991). Nepoužili čistý kofein, ale vytvořili si 15% čajový extrakt z kávy, zeleného a černého čaje. Další testy pak probíhaly s čistým kofeinem v koncentracích 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 a 0,5 %. Extrakty ze zeleného čaje dokázaly nejlépe inhibovat růst *Phanerochaete chrysosporium* a *Sporotrichum pulverulentum*. Na černý čaj pak byly citlivější houby bílé hniloby než hnědé. Konkrétně nejvyšší inhibici růstu vykázala houba *Phlebia radiata*. V případě kávy byl největší inhibiční účinek na *Daedalea flavida*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Phanerochaete chrysosporium* a *Aspergillus flavus*. Zároveň testovali ovlivnění výsledků testů v případě filtrace připravených extraktů přes filtrační papír. To poukázalo na filtrovatelnost antimykotických účinných látek, protože inhibiční aktivita byla po filtraci ve všech případech snížena. U kávy a čaje jsou hlavními složkami polyfenoly a alkaloidy. Hlavním alkaloidem je pak kofein, který měl u nižších koncentrací různé inhibiční účinky. U houby *Gloeophyllum trabeum* a *Aspergillus Flavus* byl už u 0,2% koncentraci zaznamenán 100% inhibiční účinek. S rostoucí koncentrací se účinek rozšiřoval i na další houby. U 0,5% koncentrace pak byl efekt inhibice na všechny druhy 100%. Nejméně citlivé byly houby *Pinus palustris*, *Phlebia radiata* a *Dulciniu concentrica*.

Arora a kol. (2009) dále testovali antimikrobiální aktivitu extraktů z kávy a čaje v nízkých koncentracích ve vodných roztocích. Všechny testované bakterie byly více či méně citlivé na čajové nebo kávové extrakty.

Další *in vitro* testy účinnosti odpadních látek z kávy provedli Barbero-López a kol. (2018) se třemi houbami hnědé hniloby a jednou houbou hniloby bílé. V testu použil živnou půdu s 1%, 2% a 5% obsahem proseté kávové sedliny, 1% obsahem filtrované kávy a 1% obsahem čerstvé kávy. Vyhodnocení testů probíhalo podle Chang a kol., (1999). V testech byla zjištěna inhibice růstu hub u vzorků s 5% obsahem proseté kávové sedliny, ve které je méně než 0,1 % kofeinu. Toto zjištění pak souhlasí s výsledky Arora a Ohlan (1997), ale ukazuje silnější účinek kávových zbytků nežli samotného kofeinu na *Gloeophyllum trabeum*.

Lekounougou a kol. (2008) testovali účinnost kofeinu v kombinaci s propikonazolem. Antifungální testy provedli podle metodiky Chang a kol. (1999). Propikonazol rozpuštěný v etanolu a kofein v destilované vodě byly přidány do sladového agaru a testovány na různé kmeny hub. Propikonazol sám o sobě vykazuje dobré antifungální účinky. Kofeinem v koncentraci 10 mM byl zcela inhibován růst *T. versicolor*. Dále se testovalo, zda je možné dosáhnout kvalitního inhibičního efektu směsí kofeinu v různých koncentracích a směsí se sníženým obsahem propikonazolu. Účinkem byl vyšší stupeň inhibice růstu hub, bez ohledu na koncentraci kofeinu.

Cofta a kol. (2018) testovali na dřevu borovice lesní (*Pinus sylvestris*) kombinaci kofeinu a komerčního přípravku na bázi mědi. Kdy do ochranného prostředku přidali kofein v různých koncentracích (1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,125 %, 0,0625 %). V mykologickém testu pak byly použity houby *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *Paecilomyces variotii* a *Trichoderma viride*. Nejméně účinná byla kombinace s 1% koncentrací kofeinu proti houbě *A. niger*.

První výzkum na odolnost borovice lesní (*Pinus sylvestris*) upravené vakuovou impregnací kofeinem proti houbám byl zkoumán v Kwaśniewska-Sip a kol. (2018). Testovány byly různé koncentrace vodných roztoků (4,0; 6,3; 10; 20; 25 mg.ml⁻¹) proti nejčastějším plísním (*Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium funiculosum*, *Phoma violacea*, *Trichoderma viride*) a čtyřem dřevokazným houbám (*Coniophora puteana*, *Poria placenta*, *Gloeophyllum trabeum*, *Trametes versicolor*). Zároveň byla polovina vzorků vystavena vyplavení podle EN 84 (1997). Odolnost vůči houbám pak byla testována podle EN 113 a odolnost plísním podle EN ISO 846 (1997). Ztráta hmotnosti způsobená houbami byla u všech vzorků ošetřených kofeinem snížena, oproti neošetřeným referencím. Velký účinek byl pozorován proti houbě *T. versicolor*. Zároveň bylo při koncentraci 25 mg.ml⁻¹ docíleno odolnosti proti všem testovaným houbám a plísním. Výzkumníci předpokládají, že účinnost kofeinu proti houbám je způsobena inhibicí aktivity chitináz, která vede k utlumení aktivity hub.

Kwaśniewska-Sip a kol. (2019) dále pak kombinovali úpravu kofeinem vakuovou impregnací s tepelnou modifikací (při teplotách 100 °C, 120 °C, 140 °C, 160 °C, 180 °C, 200 °C). Stejně jako v Kwaśniewska-Sip a kol. (2018) byla část vzorku vystavena vyplavení, ale zároveň další část vystavena umělému stárnutí v Solarbox 1500e komoře dle modifikované normy ISO 11341-1 (2005). Následující testy odolnosti proti *Aspergillus niger* probíhaly na základě EN ISO 846 (1997). Díky tepelné úpravě došlo ke zlepšení odolnosti dřeva po umělém stárnutí, protože bylo eliminováno vyplavení kofeinu. Nejlepší výsledky pak byly dosaženy při využití teploty 160 °C.

Kwaśniewska-Sip a kol. (2021) dále pokračovali výzkumem, jaká je interakce mezi dřevem a kofeinem, jestli existují vazby molekul kofeinu ve dřevě borovice lesní. K úpravě dřeva byla opět využita vakuová impregnace roztokem kofeinu

v koncentraci 2 mg.ml⁻¹. Část vzorků byla vystavena máčení dle EN 84 (1997). K pozorování byla využita metoda infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) a pozorování pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Bylo prokázáno snadné vyplavení kofeinu ze dřeva velkým množstvím vody. Zároveň byla na SEM zřetelná velká množství kofeinu nahromaděná v oblastech primárních stěn buněk, které jsou bohaté na lignin.

Kvůli dobré rozpustitelnosti kofeinu ve vodě je potřeba jeho stabilizace ve dřevě, aby se předešlo jeho rychlému vyplavení, proto Broda a kol. (2018) využila kombinace kofeinu s organosilany, u kterých byla prokázána schopnost udržet aktivní látky ve dřevě (Panov a Terziev, 2009). Dřevo borovice (*Pinus sylvestris*) bylo ošetřeno vakuově podle EN 113 s použitím 3 různých ošetřujících přípravků: 5% roztoku trimethoxysilanu, 2% vodného roztoku kofeinu a jejich směs. Část vzorků byla vystavena vyplavení podle EN 84. Odolnost proti houbě *Coniophora puteana* pak byla testována po dobu 16 týdnů v Kolleho baňkách v souladu s EN 113. Výsledky ukázaly, že vylouhovatelnost hraje u samotného kofeinu velkou roli, protože úbytek hmotnosti vzrostl z 1,4 % na 20,7 %. Broda a kol. (2018) docílili účinné stabilizace kofeinu ve dřevě pomocí organosilanů, které mohou vytvářet stabilní chemické vazby jak se dřevem, tak s účinnými látkami na jeho ochranu. Dosáhla tak nejen odolnosti proti biologické degradaci, ale i proti vyplavení.

Ratajczak a kol. (2018) využil k ochraně dřeva vakuovou impregnací. Stejně jako ve výzkumu Broda a kol. (2018) byly ke zvýšení hydrofobizace dřeva použity organosilany spolu s 2% roztokem kofeinu, navíc ještě testoval 30% etanolový extrakt propolisu. Testována byla bělová část borovice (*Pinus sylvestris*). Ošetřené vzorky byly vystaveny urychlenému stárnutí podle EN 84 (2000) a mykologickým testům podle EN 113 (1996) s houbou hnědé hniloby *Coniophora puteana*. Vzorky získaly po úpravě organosilany vyšší odolnost i po vyplavení, což se připisuje získání hydrofobních vlastností.

Dřevo ze sedmi druhů dřevin (dub červený, ořech, sapeli, dub letní, smrk, borovice a buk) bylo máčeno po 24 hodin v roztoku kofeinu (20 g.l⁻¹) ve výzkumu Kobetičová a kol. (2020b). Následné testování probíhalo v petriho miskách, kdy byl na živnou půdu z 3% maltózového agaru vždy vložen jeden testovaný vzorek a po jeho jedné straně agar s myceliem houby *Serpula lacrymans* a na druhé *Coniophora puteana*. Byla zjištěna možná interakce extraktivních látek ve dřevě s kofeinem. Nejlepší příjem kofeinu byl podle koncentrace u buku a dubu červeného, nejhorší pak u smrku, kvůli jeho uzavírajícím se dvojtečkám. Nejodolnějším byl ořech, který má sám o sobě dobrou odolnost díky svým extraktivním látkám, mezi které patří juglón.

Kobetičová a kol. (2021a) testovali účinnost methylxantinů – kofeinu (1 g.l⁻¹), ve vodném roztoku s houbou *Coniophora puteana*. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí kapalinové chromatografie, kde byly vzorky hub analyzovány každých 7 dní na obsah kofeinu. Koncentrace kofeinu v houbách nejprve stoupala, po dvou týdnech začala klesat, což naznačovalo biodegradaci hub. Stejně tak

probíhal výzkum s houbou *Serpula lacrymans* (Kobetičová a kol., 2020c). Bylo zjištěno, že houby jsou schopny degradovat kofein na teofylin a teobromin a všechny tyto methylxantany metabolizuje. Autoři si toto vysvětlují buď jako snahu houby o snížení toxických účinků nebo, že je využívají jako živiny.

Výzkum s použitím odpadních stříbrných slupek kávových zrn (jde o poslední vrstvu chránící samotné kávové zrno) na ochranu dřeva provedl Barbero-López a kol (2020). Analyzovány byly antimykotické testy extraktu ze slupek *in vitro* podle metodiky Belt a kol. (2013) proti *Poria placenta*, *Gloeophyllum trabeum* a *Trames versicolor* a *in vitro* testy rozpadu dřeva napadeného *Coniophora puteana*. Ve vyšších koncentracích byla docílena 60-70% inhibice růstu hub, nikdy ale nedošlo ke 100% zamezení růstu. V porovnání s komerčními přípravky na bázi mědi byly účinky extraktů stříbrných slupek významně horší.

Propolis

Propolis má antibakteriální a protiplísňové vlastnosti. Podle dosavadních výzkumů bylo dřevo ošetřené propolisem odolnější hnilobným houbám.

Woźniak a kol. (2020) testovali odolnost bělového dřeva borovice lesní (*Pinus sylvestris*) upraveného extraktem z propolisu proti houbě *Coniophora puteana*. Ve výzkumu Akçay a kol. (2020) bylo propolisovým extraktem upravené nejen dřevo borovice lesní, ale také pavlovnice (*Paulownia elongata*). Vystaveny byly působení *Trames versicolor* a *Neolentinus lepiseus*. Odolanowska a kol. (2021) použila k úpravě borovicového dřeva kromě propolisu i organosilany. Díky kombinaci propolisu a silanů odolávalo dřevo houbám *Aspergillus niger* a *Trichoderma virens*, v porovnání s dřevem neupraveným nebo upraveným pouze silany.

Extrakty z hub

K ochraně dřeva před houbami je také možné extrakty z jiných hub. Tyto houby jsou především s antibiálním mechanismem (omezujícím růst jiných organismů), kteří vylučují metabolity škodlivé pro jiné organismy. Výzkumu těchto látek, antibiotik, bylo věnováno mnoho výzkumů v zemědělství, ale v ochraně dřeva jim zatím nebyla věnována velká pozornost. Ricard a kol. (1968, 1969) izoloval z houby druhu *Scytalidium* metabolity scytalidin a kyselinu scytalidovou, které prokázaly antifungální schopnosti (Cease a kol., 1989; Overeem a Mackor, 1973; Strunz a kol., 1972), na které byla většina hub způsobujících hnilobu a zbarvení dřeva citlivá (Stillwell a kol., 1973). V dalších výzkumech pak byly testovány také metabolity hub rodu *Trichoderma*, *Penicillium* a *Aspergillus* (Bruce a Highley 1991; Highley a Ricard 1988). V případě rodu *Trichoderma* byla prokázána účinnost proti houbám hnědé hniloby, na houby bílé hniloby pak lépe účinkuje rod *Aspergillus*. Croan (1997) zkoumal metabolity houby kmene *Streptomyces*, které inhibovaly růst všech testovaných hub.

Extrakty ze dřeva

Existuje řada dřevin, která vykazuje vyšší odolnost proti vnějším vlivům nezávisle na preventivní ochraně. Přirozená trvanlivost dřevin, definovaná jako jeho vlastní odolnost vůči činitelům ničícím dřevo, se může značně lišit v závislosti na stáří stromu, zeměpisném původu a podmínkách růstu. Odolnost vůči rozpadu se také liší uvnitř kmene, např. má tendenci se radikálně zvyšovat od dřevě k hranici jádro-běl a podélně od koruny ke kořenům (Stirling a kol., 2015) a obvykle je spojena s chemickým složením dřeva, zejména s přítomnými extraktivními látkami (Daniels a Russell, 2007, Gierlinger a kol., 2004, Pâques a Charpentier, 2015). Zelené rostliny působí jako zásobárny fungicidů, které jsou netoxické pro savce a snadno biologicky rozložitelné, oproti syntetickým chemikáliím. Mnoho studií se zabývá vývojem ekologicky šetrných prostředků na ochranu dřeva. Při výzkumech jsou většinou zkoumána extraktiva z jádra, ve kterém se vyskytují ve větším množství než ve dřevu bělovém. Ligninovorní houby vyvinuly strategie, kterými se brání proti toxicitě extraktiv. Extraktiva jsou stromem syntetizována během jeho života, aby jej chránila před biotickými a abiotickými útoky. Díky tomu, že molekuly extraktivních látek zůstávají v mrtvém dřevě, mohou být důležitými kontroléry rychlosti rozkladu. Existuje úzká korelace mezi trvanlivostí dřeva a obsahem extraktiv (Kirker a kol., 2013, Kirker a kol., 2016; Pometti a kol., 2010). Chemické složky, zejména v jádrovém dřevě, zlepšují odolnost proti rozpadu u mnoha druhů dřevin (Desch a kol., 1981). Přírodní extrakty byly široce používány v řadě studií a jsou potenciálně užitečné pro ochranu dřeva proti růstu plísní a hub (Bakar a kol., 2013; Fidah a kol., 2016; Jelokova a Šindler, 1997; Mansour a Salem, 2015; Philp a kol., 1995; Qi a Jellison, 2004; Salem a kol., 2016a; Wang a kol., 2005; Yang a Clausen, 2007; Zhang a kol., 2016).

Kůra dřeva obsahuje velký podíl tříslovin, extraktivních látek, pryskyřic a vosků. Díky tomu se může z kůry, běžně končící jako palivo, stát ekonomicky hodnotnější produkt. Pomocí pyrolýzy se z kůry tepelnou degradací získají pyrolytické oleje, které byly zkoumány jako prostředek k ochraně dřeva (Barbero-López a kol., 2019; Mohan a kol., 2008; Mourant a kol., 2005; Suzuki a kol., 1997). Tyto studie ukázaly, že růst plísní byl těmito oleji inhibován. Převážně z dubového dřeva pak byly horkou vodou extrahovány třísloviny. Ve vzniklém roztoku bylo ošetřované dřevo máčeno několik týdnů. Třísloviny chrání dřevo proti houbám, kdy zapříčiní neaktivitu houbových enzymů degradujících složky dřeva. Taniny jsou lehce rozpustné ve vodě, ale obtížně se fixují do dřeva. Tomuto problému bylo věnováno mnoho výzkumů (Lotz, 1993; Lotz a Hollaway, 1988; Mitchell a Sleeter, 1980).

Sen (2001) provedl testy odolnosti vůči plísním na smrkovém, jedlovém a borovém dřevu. Použil výtažky z dubu valoniového (*Quercus macrolepis*), kůry borovice turecké (*Pinus brutia*) a prášek z galony v různých koncentracích. Výsledky ukázaly účinné antimykotické vlastnosti testovaných látek, ale ukázala se špatná fixace daných látek ve dřevě.

Sen a kol. (2009) proto dále zkoušel zlepšit fixaci účinných látek na dřevu buku (*Fagus orientalis*) a borovice lesní (*Pinus sylvestris*). V tomto výzkumu testoval extraktiva z dubu valoniového (*Quercus macrolepis*), kůry borovice turecké (*Pinus brutia*) a z listů škumpy sicilské (*Rhus coriaria*) v kombinaci s kyselinou boritou, boraxu, síranu hlinitého a síranu měďnatého. Přidání 1% kyseliny borité nebo boraxu mělo pozitivní vliv na retenci extraktů z dubu valoniového a listů škumpy, nikoli však na extrakty z kůry borovice turecké. Přidání více než 3% minerálních solí mělo negativní vliv na fixaci všech tří extraktů. Síran hlinitý s výtažky z kůry borovice měl pozitivní vliv na vzorky borovice lesní. Použití kombinovaných solných roztoků od 1 % do 3 % mělo negativní vliv na retenci a fixaci. Zvýšení přídatku soli o více než 1 % způsobilo větší vyluhování extraktů ze vzorků dřeva, což jim poskytlo špatnou ochranu proti napadení houbami.

2.4.2 Modifikace esenciálními oleji

Rostliny produkují řadu aromatických a nearomatických látek. Některé z nich jsou uznávány antimikrobiální látky. Fenoly, terpenoidy, alkaloidy, lektiny a polypeptidy jsou produkty, které byly široce používány k různým aplikacím (Geissman, 1963; Park a Shin 2005). Fenolické sloučeniny mající C3-boční řetězce v nižším stupni oxidace a neobsahující kyslík, jsou klasifikovány jako éterické oleje (Cowan, 1999). Éterické oleje jsou sekundární metabolity rostlin se širokou škálou použitelnosti, podle jejich chemických, fyzikálních a senzorických vlastností (Chittenden a Singh, 2008) Nevýhodami esenciálních olejů jsou chemická nestabilita a variabilita, špatná rozpustnost ve vodě, degradace působením světla, kyslíku a působením i mírných teplot a zároveň jejich nízká účinnost v malých koncentracích (Batish a kol., 2008; Clerici a kol., 2018). Díky prokázaným antifungálním schopnostem proti plísním a houbám byla provedena řada výzkumů s aplikací esenciálních olejů z rostlin, koření a bylin na ochranu dřeva (Bahmani a Schmidt, 2018; Dubey, 1991; Heisey a Groham, 1992; Hussain a kol., 2013; Kartal a kol., 2006; Mohareb a kol., 2013; Moutaouafiq a kol., 2019; Pánek a kol., 2014; Salem a kol., 2016; Voda a kol., 2003; Xie a kol., 2017; Yang a Clousen, 2007; Zhang a kol., 2016). V posledních letech je zkoumáno spojení nanotechnologie s biocidy s pomalým uvolňováním (Reinprecht a kol., 2017). Dopad nanotechnologií ovšem není zcela prozkoumán (Colvin, 2003), proto je důležité jejich další výzkum. Při použití bylinných extraktů je problém s jejich fixací ve dřevě. Porézní dřevo totiž působí jako filtr, který brání absorpci velkých molekul s nízkou hustotou. Počítá se tedy s tím, že roztoky obsahující částice ucpávají póry během procesu impregnace (Nicholas, 1973).

Skořice se ve výzkumech Cheng a kol. (2006, 2008), Lin a kol. (2007), Lin a kol. (2020), Wang a kol. (2005) a Maoz a kol. (2007) prokázala svou výbornou schopnost ochrany proti bakteriím, plísním a termitům. Lin a kol. (2007) došli k velmi dobrým výsledkům v laboratorních testech, kdy ve zkoušce odolnosti proti termitům byly u neošetřeného dřeva napadeného hnědou a bílou hnilobou 31,8 a 18,7 %, zatímco u vzorků ošetřených 5% roztokem skořicového extraktu vykazovaly úbytek průměrně 0,8 a 1,2 %. Při testování odolnosti proti termitům to pak bylo 7,28 % u neošetřeného dřeva a 1,35 % u ošetřeného. Účinnou látkou ve skořici se prokázal cinnamaldehyd (Wang a kol., 2005). Výzkum Lin a kol.

(2020) dále prokázal antifungální účinek trans-cinnamaldehydu v esenciálním oleji získávaném z listů stromu *Cinnamomum osmophloeum*. Yingprasert a kol. (2015) testovali odolnost proti houbám u třískových desek upravených skořicovým a dále pak hřebíčkovým esenciálním olejem, kdy do směsi lepidla přidávali etanol s daným esenciálním olejem. Takto upravené desky byly odolnější vůči plísním a houbám, ale zároveň byl ovlivněn rovnovážný stav vlhkosti. Stejně tak zjistili Matan a Matan (2007) účinnost esenciálního oleje ze skořice a hřebíčku proti růstu plísní na kaučukovém dřevě.

U sedmi esenciálních olejů (egyptská pelargonie, kopr, tymián, indický kmín, citronová tráva, rozmarýn, čajovník) byla testována schopnost inhibovat růst tří plísní (*Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* a *Penicillium chrysogenum*) na borovici ježaté (*Pinus echinata*) ve výzkumu Yang a Clausen (2007). Vzorky borovice byly máčeny nebo vystaveny výparům esenciálních olejů. Tymiánový olej poskytoval velmi účinnou ochranu, dále pak olej z egyptské pelargonie.

Antifungální aktivita anýzového, limetkového a mandarinkového oleje v různých koncentracích proti plísním (*Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* a *Penicillium sp.*) na kaučukovém dřevě byla testována Matan a Matan (2008). Dřevo bylo upraveno máčením a impregnací. Nejlepším inhibitorem růstu plísní byl anýzový olej. Mandarinkový a limetkový olej byly účinné ve vyšších koncentracích.

Esenciální oleje z bazalky, oregana a tymiánu v různých koncentracích a jejich schopnost inhibovat růst hub (*Tremes versicolor* a *Postia placenta*) byly testovány ve výzkumu Pop a kol. (2019). Esenciální olej z oregana a tymiánu prokázaly účinnou ochranu proti testovaným houbám. Tato ochrana souvisí s koncentrací olejů. U bazalkového oleje byl účinek ochrany velmi nízký.

Chittenden a Singh (2011) testovali esenciální oleje a jejich aktivní složky (čajovník, eukalyptus, anýz, geranium, cinnamaldehyd, novozélandská kanuka, oregano, lema, eugenol) proti houbám hnědé hniloby *Oligoporus placenta*, *Coniophora puteana* a *Antrodia xantha*, dřevozbarvujícím houbám *Ophiostoma floccosum*, *Ophiostoma piceae*, *Sphaeropsis sapinea*, *Leptographium procerum* a plísní *Trichoderma harzianum*. Testy probíhaly na živné půdě podle metodiky Singh a Chittenden (2008) v různých koncentracích. Dále pak podle EN 113 (1996) s dřevěnými vzorky na agarovém médiu. Geranium, cinnamaldehyd a eugenol inhibovaly růst všech testovaných hub i v 1% i nižší koncentraci na živném médiu. Čajovník, oregano, lema a anýz účinkovaly jen na některé houby, kanuka inhibovala pouze houbu *Coniophora puteana* a olej z eukalyptu nebyl schopen omezit růst ani jedné ze zkoušených hub. V testech na dřevě byl neúčinnější eugenol, který vyšel jako nejlepší varianta tam, kde nebude hrozit jeho vyplavení.

Hussain a kol. (2013) provedli test účinnosti pěti esenciálních olejů (olej z koptského kmínu, hřebíčku, česneku, zederachu indického a olivový olej) proti plísním (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Grifola sp.* a *Trichoderma viride*) na živném agarovém médiu podle metodiky Nene a kol. (1971) a zároveň na půdních dřevěných

bločích podle American Wood-preservers' Association Standard E10-06 (2006). Oleje z koptského kmínu, zederachu indického a hřebíčku byly nejúčinnější proti testovaným plísním (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Grifola sp.* a *Trichoderma viride*).

Pánek a kol. (2014) testovali deset esenciálních olejů (bříza, hřebíček, levandule, oregano, puškovec, saturejka, šalvěj, čajovník, tymián a mix – šalvěj, tymián, eukalyptus, levandule a citron v poměru 1:1:1:1:1) a jejich antifungicidní účinnost na dřevě buku (*Fagus sylvatica*). Bukové vzorky byly máčeny po 24 hodin při 100kPa a 20 °C v jednotlivých esenciálních olejích v 1%, 3,5% a 10% koncentraci. Další testování probíhalo podle modifikované normy EN 113 (1997). Testy probíhaly proti houbám hnědé hniloby (*Coniophora puteana*), bílé hniloby (*Trametes versicolor*) a plísním (*Aspergillus niger* a *Penicillium brevicompactum*). Nejlepší inhibiční účinky i v nízkých koncentracích proti plísním a *Coniophora puteana* měl esenciální olej z tymiánu, oregana, puškvorce obecného a hřebíčku.

Bahmani a Schmidt (2018) testovali šestnáct esenciálních olejů (oliva, koptský kmín, bergamot, cedr, heřmánek, eukalyptus, fenykl, geranium, levandule, citronová tráva, máta rolní, máta peprná, neem, pupalka, anýz, čajovník, tymián), na vzorcích dřeva buku (*Fagus orientalis*) a borovice (*Pinus taeda*). K aplikaci olejů byla použita vakuová impregnace. Oleje byly testovány proti plísním (*Aspergillus niger*, *Penicillium commune*), houbám hnědé hniloby (*Coniophora puteana*), bílé hniloby (*Trametes versicolor*), měkké hniloby (*Chaetomium globosum*) a přirozeným vzdušným sporám. Nejúčinnější vyšly oleje z citronové trávy, tymiánu a levandule, které byly účinné proti všem testovaným houbám.

Reinprecht a kol. (2017) zkoumali účinek kombinace nanočástic ZnO v kombinaci s hřebíčkovým a oregánovým olejem, kdy byla dokázána prokazatelná účinnost daných olejů v ochraně dřeva proti čtyřem druhům plísní, proti použití samotných nanočástic.

Goktas a kol. (2010) testovali ochranu bukového (*Fagus orientalis*) a borového (*Pinus sylvestris*) dřeva proti houbě hnědé hniloby *Postia placenta* a bílé hniloby *Trametes versicolor* úpravou esenciálními oleji z modřence a badilu horského. Testování probíhalo metodou půdních bloků. Nejnižší úbytek byl u bukového dřeva ošetřeného esenciálním olejem z badilu horského v koncentraci 0,25 % pro *P. placenta*, u *T. versicolor* byl ale u stejné kombinace, jen v 3% koncentraci naopak úbytek nejvyšší.

Velký výzkum na odolnost 22 fenolů, fenol éterů a aromatických aldehydů esenciálních olejů proti dřevokazným houbám *Trametes versicolor* a *Coniophora puteana* na živném médiu uskutečnili Voda a kol. (2003). Nejúčinnějšími pro inhibici růstu obou hub byly thymol, carvacrol, trans-anethol, methyl chavikol a cuminaldehyd - složky tymiánu, oregana, anýzu, bazalky a kmínu.

I v některých druzích ovoce je možné nalézt sloučeniny, které mají potenciální využití jako ochranu dřeva proti plísním. Ve výzkumu Macías a kol. (2005) byly testovány složky extrahované ze slupek citrusů. Těkavé složky

a flavonoidy citrusových plodů je možno použít jako pesticidy proti houbám a hmyzu.

Demirel a kol. (2021) upravili dřevo epoxidovaným lněným a sójovým olejem, aby zlepšili jeho odolnost proti hnilobě, hmyzu a termitům. Oleji upravené vzorky oproti referenčním vykazovali nižší úbytky hmotnosti při mykologických testech, dále pak 100% úmrtnost larvy Tesaříka krovového (*Hylotrupes bajulus*) podle EN 47. Zároveň během testování odolnosti termitům podle EN 117 byla prokázána 100% úmrtnost larev termita *Reticulitermes lucifugus*.

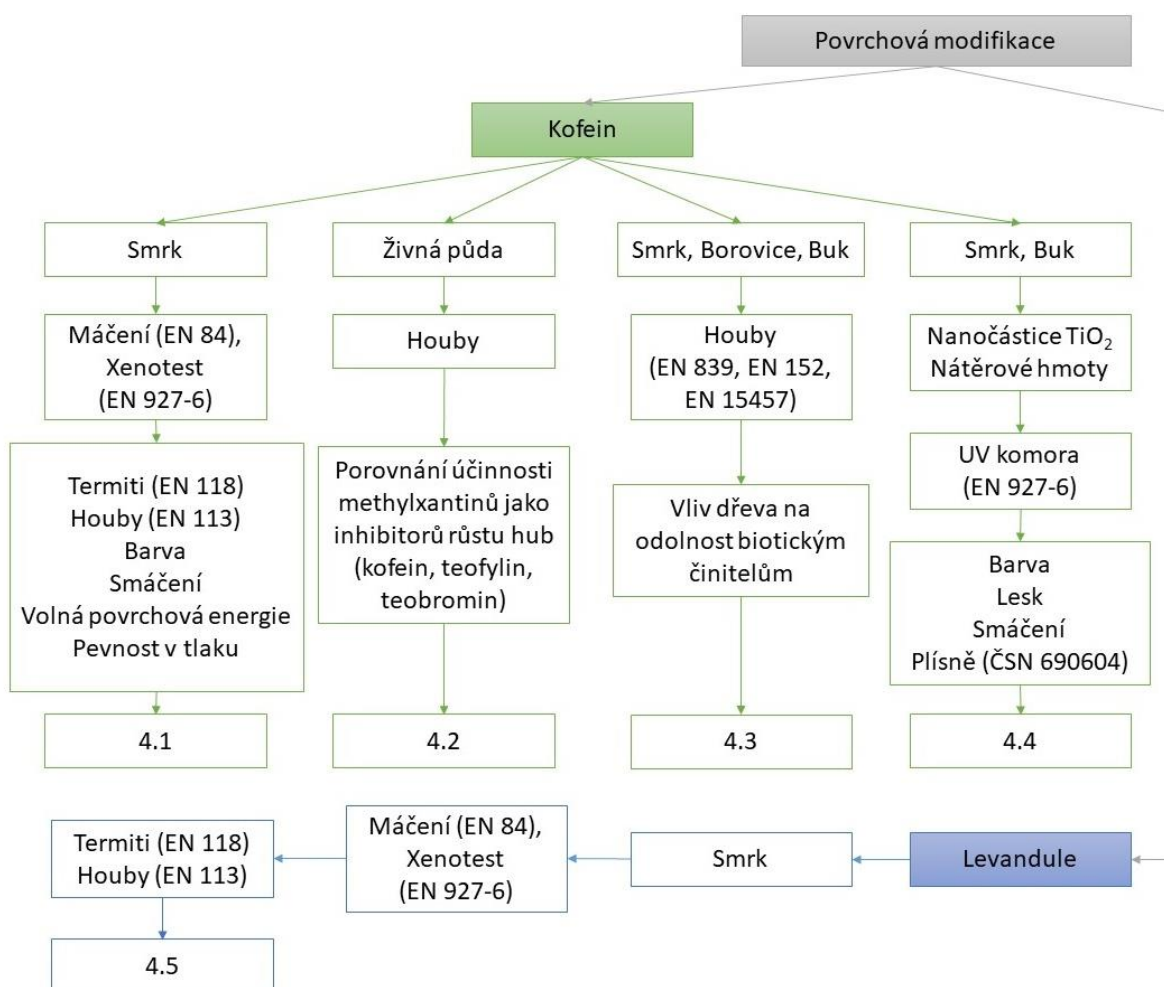
2.4.3 Výhody a nevýhody modifikací přírodními látkami

Ochrana dřeva syntetickou impregnací je stará téměř dvě stě let, zhruba od roku 1830, kdy byly používány relativně levné a účinné toxické chemikálie (Graham, 1973; Susi a kol., 2011). Tyto chemikálie ale způsobovaly ekologické havárie (Baechler a Gjovik, 1986). Při použití běžně dostupných prostředků chemické ochrany dřeva je proto potřeba myslet na jejich toxicitu a nesmí se zapomenout ani na následné problémy s likvidací dřeva ošetřeného těžkými kovy. Syntetické látky, používané pro ochranu dřeva, obsahují stále velké množství chemikálií, které jsou považovány za toxické a mohou mít nepříznivé účinky na lidské zdraví a zároveň škodí životnímu prostředí. (Decker a kol., 2002; Hingston a kol., 2002; Singh a Singh, 2012; Woods, 1994). Všechny tyto aspekty v posledních letech oživily zájem vědců i veřejnosti o využívání alternativních metod ochrany dřevěných výrobků s cílem vyhnout se používání chemikálií (Evans, 2003; González-Laredo a kol., 2015; Schmidt, 2007).

Pokud se jedná o biologickou ochranu, je na rozdíl od syntetických chemických látek snadněji biologicky odbouratelná, což ale bohužel přináší i nevýhody v podobě nižší odolnosti vůči povětrnostním vlivům. Dosud ne plně uspokojivě je vyřešena zejména jejich vyplavitelnost ze dřeva vlivem srážkové vody, což je limitující pro využití v exteriéru bez kontaktu se zemí (Singh a Singh, 2012).

3 METODIKA

Obrázek 1 ukazuje schéma provedených experimentů.



Obrázek 1 Schématické zobrazení výzkumu

3.1 Použité materiály

V experimentech v kapitolách Výsledky 4.1, 4.3, 4.4 a 4.5 byly vzorky vyrobeny z dřeva smrku ztepilého (*Picea abies*), jako zástupce jehličnatého dřeva nejčastěji využívaný jako konstrukční dřevo, s poměrně nízkou biologickou odolností a zároveň se špatnou impregnovatelností. Buk lesní (*Fagus sylvatica*), u kterého lze předpokládat v budoucnu výraznější průmyslové využití, má nízkou přirozenou trvanlivost a je používán v mykologických testech jako referenční dřevo zatupující listnaté druhy dřev. Testován byl v částech výsledků uvedených v kapitolách 4.3 a 4.4. V kapitole Výsledky 4.3 byla dále testována běl borovice lesní (*Pinus sylvestris*), s nízkou přirozenou trvanlivostí, která je používána v mykologických testech jako referenční zástupce jehličnatých dřevin. Další použité materiály s odkazy na jednotlivé kapitoly Výsledků, ve kterých byly

použity, jsou popsány v Tabulce 1 a použité dřevokazní činitele s odkazy na kapitoly Výsledky, ve kterých byly použity, jsou v Tabulce 2. Konkrétní rozměry a další vybrané charakteristiky jednotlivých vzorků a použitých materiálů jsou popsány v kapitolách Výsledky.

Tabulka 1 Rozpis materiálů pro jednotlivé experimenty s odkazem na dané testy v kapitole Výsledky

Použité látky	Výrobce	Popis	V kapitole Výsledky
Kofein	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika	2% koncentrace	4.1
		1% a 2% koncentrace	4.3, 4.4
5% roztok levandule (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill. x <i>Lavandula latifolia</i> Medik.) z esenciálního oleje	Yellow & Blue, Tierra Verde, Popůvky u Brna, Česká republika	70 % etanolu a 25 % destilované vody	4.5
Bochemit QB Hobby	Bochemie Wood Care s.r.o. Bohumín, Česká republika		4.1, 4.5
Lukofob DxL	Lučební závody a.s. Kolín, Česká republika	Mix hydrofobních přípravků	4.1, 4.5
2% Horsemen Stonecare	HORSEMEN, Belgie		
2% Horsemen concrete	HORSEMEN, Belgie		
FN-NANO®	FN-NANO® s.r.o., Praha, Česká republika	10 a 15% koncentraci	4.4
OSMO UV 420	Osmo, Münster, Německo		4.4
Transparentní exteriérová lazura	Imprenal profi s UV-filtrem, Stachema a.s., Kolín, Česká republika		4.4
Theobromin a theofilin	Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika		4.2
Maltose agar	P-Lab, Pardubice, Česká republika		4.2

Tabulka 2 Rozpis použitých dřevokazných činitelů s odkazem na testy, ve kterých byly použity v kapitole Výsledky.

Dřevokazný činitel	V kapitole Výsledky
Houby bílé hniloby	
<i>Trames versicolor</i>	4.2
Houby hnědé hniloby	
<i>Coniophora puteana</i>	4.2, 4.3
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	4.3
<i>Gloeophyllum sepiarium</i>	4.2
<i>Poria (Rhodonia) placenta</i>	4.1, 4.3, 4.5
<i>Serpula lacrymans</i>	4.2
Dřevozbarvující houby	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	4.3
<i>Sclerophoma pithyophila</i>	4.3
Plísně	
<i>Penicillium brevicompactum</i>	4.3
<i>Aspergillus niger</i>	4.3
<i>Trichoderma viride</i>	4.3
Spraš plísni	4.4
Termiti	
<i>Reticulitermes flavipes</i>	4.1, 4.5

3.2 Základní testy

Vybrané skupiny vzorků (Výsledky 4.1, 4.5) byly pro simulaci vystavení venkovnímu působení máčeny podle EN 84 nebo umělému urychlenému stárnutí v Xenotestu (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) podle modifikované normy EN 927-6 (2018). Ve výzkumu Výsledky 4.4 bylo použita UV komora (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) a klimatizační komora Discovery My DM340 (ACS, Massa Martana, Itálie).

Testy odolnosti upraveného dřeva proti houbám hnědé hniloby probíhaly a byly vyhodnoceny podle EN 113 (1996) (Výsledky 4.1; 4.2, 4.5), EN 839, EN 152, EN 15457 (Výsledky 4.3) a ČSN 49 0604 (Výsledky 4.4). Testování odolnosti dřeva proti termitům (Výsledky 4.1; 4.5) probíhalo a bylo vyhodnoceno podle EN 118 (2013).

3.3 Doprovodné testy

Pomocí kapalinové chromatografie/hmotnostní spektrometrie, elektronového mikroskopu (Tescan Orsay Holding, Brno, Česká republika) a analýzy elementárního složení byla zjišťována koncentrace látek ve dřevě (Výsledky 4.1).

Před a po úpravách (Výsledky 4.1, 4.5) a před a během postupného stárnutí v UV komoře (Výsledky 4.4) byly měřeny také parametry barvy, L^* , a^* , b^* Spektrofotometrem CM-600d (Konica Minolta, Osaka, Japonsko) pro výpočet celkové barevné změny ΔE^* (Stearns, 1986), smáčení (Výsledky 4.1, 4.4, 4.5) a volné povrchové energie (Výsledky 4.1, 4.5), pomocí softwaru Krüss (Krüss, Hamburk, Německo) na goniometru Krüss DSA 30E (Krüss, Hamburk, Německo). Podle norem ČSN 49 0101 (1980), ČSN 49 0108 (1993) a ČSN 49 0110 (1980) byla měřena pevnost v tlaku (Výsledky 4.1) na přístroji Tira 50 kN (Tira GmbH, Schalkau, Německo). Dále pak probíhalo vyhodnocení povrchu (Výsledky 4.4) mikroskopickou analýzou na laserovém mikroskopu (Lext Ols 4100, Olympus, Tokio, Japonsko) a vizuální zhodnocení na skeneru (Canon 2520 MFP, Canon, Tokio, Japonsko).

3.4 Statistické vyhodnocení

Statistická analýza byla provedena v programu Statistica (TIBOCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Byl použit k výpočtu středních hodnot (Mean), směrodatných odchylek (SD), analýzy ANOVA ($\alpha=0,05$), Tukeyho HSD testu s 95% hladinou významnosti a lineární regresní analýzy a k tvorbě krabicových grafů.

4 VÝSLEDKY

Výsledky práce jsou uvedeny formou souhrnu publikovaných článků v časopisech z vědecké databáze Web of Science.

4.1 Kofein – Perspektivní přírodní biocid pro ochranu dřeva proti hnilobným houbám a termitům

Cílem této studie bylo otestovat kofein – zdravotně nezávadnou a ekologickou přírodní sloučeninu – jako potenciálně účinný fungicid a insekticid pro ochranu dřeva. Kofeinové ošetření dřeva jednoduchou a levnou technologií dlouhodobého máčení bylo testováno proti houbě hnědé hniloby *Rhodonia placenta* a termitům *Reticulitermes flavipes*. Houby a hmyz mohou způsobit těžkou ztrátu funkčnosti dřevěných konstrukcí. Současné hledání produktů šetrných k přírodě je v kontextu měnícího se světového prostředí pochopitelné.

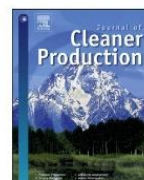
Experiment s kofeinem ošetřeným dřevem ze smrku ztepilého (*Picea abies*) trval proti napadení hnilobou podle EN 113 16 týdnů a 6 týdnů proti napadení termity podle EN 118. Hromadné ztráty kofeinem ošetřených vzorků dřeva bez stárnutí, způsobené *R. placenta* a *R. flavipes* byly malé, pouze 1,4 %, resp. 0,5 %.

Výsledky jasně naznačují, že kofein je alternativou ke komerčním biocidům, např. k referenčnímu Bochemitu QB, který je dobře fixovatelný na dřevo, obsahující kyselinu boritou a alkylbenzylodimethylammonium chlorid. Kofein byl citlivý na vyplavování ze dřeva vodou i v přítomnosti dodatečné hydrofobní ochranné vrstvy.

Na základě dosažených výsledků je možné doporučit kofeinovou úpravu jako ekologickou alternativu ochrany dřeva, ale pouze v interiéru nebo exteriéru pod střechou proti napadení termity a také proti hnilobě. Ošetření kofeinem nemělo žádný negativní dopad na pevnost v tlaku a barvu smrkového dřeva, zatímco zlepšilo smáčení povrchu důležité pro případné následné nátěry nebo aplikace lepidel.

Zpracováno na základě článku s IF 9,297 (2020) ve WoS:

ŠIMŮNKOVÁ, K., REINPRECHT, L., NÁBĚLKOVÁ, J., HÝSEK, Š., KINDL, J., BORŮVKA, V., ... & PÁNEK, M. (2021). Caffeine–Perspective natural biocide for wood protection against decaying fungi and termites. *Journal of Cleaner Production*, **304**, 127110.



Caffeine – Perspective natural biocide for wood protection against decaying fungi and termites

Kristýna Šimůnková^a, Ladislav Reinprecht^b, Jana Nábělková^c, Štěpán Hýsek^a, Jiří Kindl^a, Vlastimil Borůvka^a, Tereza Lišková^a, Jan Šobotník^{a, d}, Miloš Pánek^{a, *}

^a Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00, Prague 6, Czech Republic

^b Faculty of Wood Sciences and Technology, Technical University in Zvolen, Masarykova 24, 960 53, Zvolen, Slovak Republic

^c Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Žitkova 1903/4, Prague 6, Czech Republic

^d Faculty of Tropical AgriSciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00, Prague 6, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 November 2020

Received in revised form

9 April 2021

Accepted 10 April 2021

Available online 14 April 2021

Handling editor: Prof. Jiri Jaromir Klemes

Keywords:

Caffeine

Spruce wood

Dipping

Bio-attack

Durability

ABSTRACT

The aim of this study was to test caffeine – harmless to health and eco-friendly natural compound – as a potentially effective fungicide and insecticide for wood protection. Caffeine treatment of wood, using simple and cheap long-term dipping technology, was tested against the brown-rot fungus *Rhodonia placenta* and termite *Reticulitermes flavipes*. Fungi and insects can cause severe loss of functionality of wooden structures. The current search for of nature-friendly products is understandable in the context of the changing world environment. The experiment with caffeine-treated refractory Norway spruce (*Picea abies*) wood lasted for 16 weeks against the rot attack according to EN 113, and for 6 weeks against the termite attack according to EN 118. Mass losses of caffeine treated wood samples without ageing, caused by *R. placenta* and *R. flavipes* were small, only 1.4% or 0.5%, respectively. Results clearly suggested that caffeine is an alternative to commercial biocides, e.g., to the reference in wood well fixable Bochemit QB, containing boric acid and alkylbenzyltrimethylammonium chloride. Caffeine was sensitive for leaching out from wood by water even in the presence of an additional hydrophobic protective layer. Based on the achieved results it is possible to recommend caffeine treatment as an environmentally friendly alternative for wood protection, but only in the interior or outdoor under roof area against termite attack and also against brown-rot fungi. Treatment with caffeine had no negative impact on the compression strength and colour of the spruce wood, while it improved surface wetting important for potentially follow-up coating or adhesive applications.

© 2021 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Our planet is in danger for many reasons, including the material treatments that play a prominent role due to copious amounts of additives used annually. Increasing requirements on the ecological and health safety of biocidal wood protection, improved the importance of eco-friendly alternatives to the artificial agents (Hill 2006; Sing and Singh 2012; Sandberg 2016). Novel bio-friendly formulations are expected to be highly efficient not only against

wood-decaying fungi and moulds, but also against insect pests (Reinprecht 2016). Another advantage can be easy penetrability of the active substances into the wood, without special technological equipment (Tarmian et al., 2020). Wood is one of the few materials that simultaneously meets the requirements for sufficient strength, flexibility, machinability, low cost, availability, aesthetic value and resource renewability. In the context of a changing world environment, it should also be supported for long-term carbon storage. Softwoods are often used in architecture for supporting structures, but also for facade cladding, window frames, doors, terraces, garden structures and fences (Feier and Hutchings 1986; Coulson 2012). The disadvantage of wood is its degradability by biotic and abiotic influences (Hill 2006; Reinprecht 2016). In terms of abiotic influences, fire causes the greatest and fastest destruction, but weathering of wood is most common and ubiquitous (Feist 1990). However, atmospheric degradation mainly causes a decrease in its

* Corresponding author.

E-mail addresses: simunkovak@fd.czu.cz (K. Šimůnková), reinprecht@tuzvo.sk (L. Reinprecht), nabelkova@fsv.cvut.cz (J. Nábělková), hyseks@fd.czu.cz (Š. Hýsek), kindlj@fd.czu.cz (J. Kindl), boruvkav@fd.czu.cz (V. Borůvka), liskovateraza@gmail.com (T. Lišková), sobotnik@ftz.czu.cz (J. Šobotník), panekmilos@fd.czu.cz (M. Pánek).

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127110>

0959-6526/© 2021 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abbreviations			
CA	Contact angle	MRM	Multiple reaction monitoring
ČSN	Czech technical standard	MS	Mass spectrometry
D65	Average daylight from the northern sky	ORWK	Owens-Wendt-Rabel-Kaelble's method
d/8	Diffused lighting/8° observe angle	QAC	alkylbenzyltrimethylammonium chloride
Δm	Mass loss	p-value	Probability of obtaining test results
EN	European technical standard	SD	Standard deviation
HSD	Honestly significant difference	R ²	Coefficient of determination
LC	Liquid chromatography	SEM	Scanning electron microscope
LxTxR	LongitudinalxTangentialxRadial directions	SFE	Surface free energy
MC	Moisture content of the wood	SCI	Specular component included
		TUV	Total ultraviolet radiation
		w	weight

aesthetic value, as the material degrades only to a depth of a few millimetres and the mechanical functionality of the elements is maintained for a long time (Kataoka et al., 2007). Adversely, biodegradation by wood-decaying fungi and insects can disrupt the mechanical functionality of wood over a relatively short period of time (Hickin 1963; Schmidt 2006). Some fungi enzymatically decompose ligno-polysaccharides, the most common biopolymer on the Earth (Ulyshen and Šobotník 2018), while insects bore extensive holes in wood and other biopolymers. Impregnation with biocides can prevent bio-degradation of less durable (EN 350, 2016), cheaper and therefore more frequently used wood species. Various types of chemicals based on borate salts, salt mixtures of chromium, copper or others, organometals, triazoles, carbamates, creosote oil and others are still used (Reinprecht 2016; Sandberg 2016). Industrial options are to protect wood by thermal modification or chemical modification – usually by acetylation and furfurylation (Hill 2006; Mantanis 2017). Currently, there is a growing emphasis on more environmentally-friendly biocidal protection procedures using natural substances, in particular plant secondary metabolites. Essential oils, organic acids, extractives from more durable types of wood, chilli, etc., belong to more-frequently used protecting agents in more research works (Kartal et al., 2006; Singh and Singh 2012; Pánek et al., 2014; Bahmani et al., 2016; Brocco et al., 2017; Bahmani and Schmidt 2018). But their fixation into wood structure in is limited and in wet environment can be leached out (Singh and Singh 2012). On the other hand, substances based on methylxanthines contained in tea (*Camellia sinensis*), coffee (*Coffea arabica*), cocoa (*Theobroma cacao*), Kola-nuts (*Cola nitida*) and Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) have interesting and highly desired properties (Lowor 2008; Arrora et al., 2009; Peláez et al., 2016). Caffeine inhibits the growth of moulds, brown-rot, white-rot and soft-rot wood-decaying fungi, including the well-known moulds *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* or *Trichoderma viride*, and rot-fungi *Coniophora puteana*, *Rhodonía placenta*, *Gloeophyllum trabeum* or *Trametes versicolor* (Arrora et al., 1997; Lekounougou et al., 2007; Kwaśniewska-Sip et al., 2018; Barbero-Lopéz et al., 2018). The positive effect of caffeine was successfully shown in combination with thermal treatment of wood (Kwaśniewska-Sip et al., 2019), hydrophobization by organosilanes (Broda et al., 2018; Ratajczak et al., 2018) or combined with fungicide propiconazole, which increased its efficacy against fungal attack (Lekounougou et al., 2008).

The protection of plants with caffeine against agricultural pests belongs to the hot topics in the applied science (Khoshraftar et al., 2019; Klein et al., 2020), however, effect of caffeine against termites or other wood-boring insects has not been studied in so far (Arrora et al., 2009; Ratajczak et al., 2018; Kwaśniewska-Sip et al., 2019). At the same time, some essential oils or kesambi smoke protection demonstrated efficacy against termites (Kartal et al., 2006; Hadi

et al., 2020). Termites are known for their voracious habits (Evans et al., 2013; Su 2019), and can damage a broad spectrum of plant-originated substrates including wood in interiors (Amusant et al., 2009; Mubarak et al., 2020).

Spruce wood has a good strength-to-density ratio and it is often used for structural purposes (Požgaj et al., 1993). At the same time, spruce wood is difficult to impregnate (Lehringer et al., 2009; Reinprecht 2016; Tarmian et al., 2020, EN 350, 2016), has little natural durability and the current environmental concerns call for improved techniques of wood protection.

Objective of this study was to test the wood-protection potential of eco-friendly natural compound – caffeine – as fungicide and insecticide. Model testing organisms used were the brown-rot fungus *Rhodonía placenta* and termite *Reticulitermes flavipes*. Two hypotheses were tested (i) that simple dipping technology will be effective for refractory spruce mature-wood protection, and that (ii) the important properties of treated wood will not be negatively affected by caffeine.

2. Material and methods

2.1. Wood, treatment agents and processes

Timber of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) mature-wood was cut into samples with a mean oven-dry density of 411 kg m⁻³. For dimensions and number of repetitions see 2.4. – 2.8. section. Samples were conditioned to an equilibrium moisture content (MC) of 12% ± 1% at 20 °C and 65% relative air humidity. Selected samples were submitted to determine the biological resistance compressive strength, chemical liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) analyses before, during and after the testing period, to measure the colour changes, surface wetting and surface free energy. "Caffeine" (Fichema s.r.o. Brno, Czech Republic) was diluted into a 2% water solution. The effect of caffeine was compared to effect of 20% water solution of "Bochemit QB Hobby" (Bochemie Wood Care, s.r.o. Bohumín, Czech Republic; active ingredients: boric acid (20% of w/w) and alkylbenzyltrimethylammonium chloride (QAC) (20% of w/w) with 2-aminoethanol as additive (<9.5% of w/w). Samples were dipped for 8 h at room temperature and atmospheric pressure. Untreated spruce samples were used as controls (samples set U). Half of all tested samples (untreated and treated with biocides) were subsequently treated with "Mixed hydrophobicer" with water repellent function, consisting of 6% water dispersion of three hydrophobic agents (2% of Lukofob DxL (Lučební závody a.s. Kolín, Czech republic; silane-siloxane emulsion in water), 2% Horsemen Stonecare (HORSEMEN, Belgium; wax emulsion diluted in water without solvents) and 2% Horsemen concrete (HORSEMEN, Belgium; wax emulsion diluted in water with microscopic glass particles). Samples were

dipped for 6 h. The treated spruce sample sets are marked H for additional hydrophobic treatment, and by O without it. Marking of samples sets, retentions of used solutions and active substances are given in Table 1. After treatment, the samples were reconditioned to a moisture of $12\% \pm 1\%$ MC. One group of samples (1st Group) was selected without any following aging procedure.

2.2. Accelerated weathering in Xenotest and leaching according to EN 84

The second group of spruce samples (2nd Group) was subjected to artificial accelerated weathering in Xenotest (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) based on a modified EN 927-6 (2018), where the following parameters were set: total exposure time 320 h (2.5 h irradiation and 0.5 h of spraying in the dark in one cycle); the set radiation intensity of 55 W m^{-2} (TUV was between 300 and 400 nm); temperature on black panel of $70 \text{ }^\circ\text{C}$; air temperature of $45 \text{ }^\circ\text{C}$, relative air humidity of 30%; the total energy of the radiation that fell on the test specimens of $13,210 \text{ kJ m}^{-2}$. A leaching procedure was applied to the third group of spruce samples (3rd Group) on the basis of EN 84 (1997). For 14 d, the specimens were placed in suitable containers, in which the water was first changed 2 times each day and, after the third day, it was changed every 1–3 d, for a total of 9 times during the procedure. Samples without ageing, artificially weathered in Xenotest and leached in water were exposed to bio-resistance tests. Spruce samples treated with caffeine and reference untreated samples were used to determine compressive strength, colour changes, surface wetting and surface free energy. Extraction LC/MS analyses were done on caffeine treated samples with and without hydrophobic treatment and without or after both aging procedures.

2.3. Estimation of resistance against the brown-rot fungus *Rhodonía placenta* and the termite *Reticulitermes flavipes*

Samples (see Table 1) ($50 \times 25 \times 15 \text{ mm}$ (LxTxR)) were tested against the decay fungus *Rhodonía placenta* (Fr.) Niemel^a, K.H. Larss & Schigel, strain FPRL 280 from Building Research Establishment, Garston - Watford - Herst, UK) according to EN 113 (1996) for 16 weeks in 1 L Kolle flasks. Degradation activity of *R. placenta* was confirmed using reference samples of Scots pine sapwood (*Pinus sylvestris* L.) (REF-P). Four samples per each treatment and aging procedure were tested. Attack by *Reticulitermes flavipes* (Kollar) was based on EN 118 (2013) simulated by adding the samples ($50 \times 15 \times 10 \text{ mm}$ (LxTxR)) to Petri dishes (90 mm in diameter) with 100 g of sand, 50 mL of distilled water and 100 termite workers. Appropriate amount of humidity was kept during the 6-week experiment, in dark, at day temperature $+30 \text{ }^\circ\text{C}$ and $+20 \text{ }^\circ\text{C}$ at night (same for stock colonies). Dimensions of samples were smaller in comparison with the standard EN 118 (2013) for termite

resistance tests, due to more sensitive evaluation of mass loss. Survival termite was established by weighing the whole termite group (starting at 200 workers) before and after the test in each Petri dish. Six samples per treatment and aging procedure were used. In both cases, the mass losses (Δm) of tested samples were determined in accordance with EN 113 (1996) and EN 118 (2013) after the tests and expressed in %.

2.4. Chemical liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS), microscopic (SEM) and elemental composition analyses

Caffeine concentrations were measured in three surface wooden layers prepared from samples with dimension of $50 \times 25 \times 15 \text{ mm}$ (depth of layer from the surface 0.0–0.5 mm; depth of 0.5–1 mm; depth of 1.0–1.5 mm). Layers were cut using microtome and middle part of tested samples from each layer with dimensions $25 \times 15 \times 0.5 \text{ mm}$ (LxTxR) were analysed by Agilent 1260 Infinity II liquid chromatograph combined with Triple Quadrupole mass detection set to multiple reaction monitoring (MRM) regime in positive polarity mode. The separation was performed on a Zorbax Eclipse Plus C18 ($3 \times 50 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$) column using methanol and water (acidified using formic acid 0.1:99.9, v/v) as the mobile phase in the following time sequence: 0–5 min 95% water, 5% methanol with 0.4 mL/min flow, 5–5.50 min 100% methanol with 0.4 mL/min flow, 5.50–5.60 min 100% methanol with 0.5 mL.min-1 flow and 5.6–7.6 min 95% water, 5% methanol with 0.5 mL.min-1 flow. Totally four samples per each type of analysed treatment (U-O, C-O, C-H – see Table 1, without and after two kinds of ageing procedures) were used. The selected surface section of the caffeine treated spruce samples and other treatments and their controls were examined using a MIRA 3 scanning electron microscope (Tescan Orsay Holding, Brno, Czech Republic). The elemental compositions of the observed section were examined by an energy dispersive spectroscopy system (Bruker XFlash X-ray detector, Karlsruhe, Germany, and ESPRIT 2 software).

2.5. Measurements of wood surface changes - colour, wetting by water and surface free energy, compressive strength and statistical evaluation

The colour parameters (Stearns, 1986) of the spruce samples were measured before and after caffeine treatment using a CM-600d Spectrophotometer (Konica Minolta, Osaka, Japan) set to an observation angle of 10° , d/8 geometry, D65 light source, and the SCI method. Six repetitions were measured per sample type (totally on 8 samples with dimensions of $50 \times 25 \times 15 \text{ mm}$) in each series. The colour difference according to the Euclidean distance ΔE^* (Stearns, 1986) was calculated using measured L^* , a^* , b^* coordinates and equation (1):

Table 1
Treatments applied to spruce tested samples.

Set of samples	Wood species	Caffeine - Retention (kg.m^{-3})		Bochemit QB - Retention (kg.m^{-3})			Hydrophobicer retention ^a (kg.m^{-3})
		Solution retention	Caffeine retention	Solution retention	Boric acid retention	QAC retention	
REF-P	Pine	–	–	–	–	–	–
U-O	Spruce	–	–	–	–	–	–
U-H	Spruce	–	–	–	–	–	117 (± 20)
C-O	Spruce	118 (± 21)	2.36 (± 0.42)	–	–	–	–
C-H	Spruce	118 (± 21)	2.36 (± 0.42)	–	–	–	121 (± 19)
B-O	Spruce	–	–	119 (± 18)	4.76 (± 0.72)	4.76 (± 0.72)	–
B-H	Spruce	–	–	119 (± 18)	4.76 (± 0.72)	4.76 (± 0.72)	119 (± 21)

^a Note: Retention of the 6% "hydrophobicer" is given only. Commercial products defined in 2.2. section were used. REF-P was used only as reference required by EN 113. REF-P (Pine sapwood), U – Untreated spruce, C – Caffeine in spruce, B – Biocide Bochemit QB in spruce, O – Without hydrophobic paint, H – With hydrophobic paint.

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (1)$$

where ΔL^* , Δa^* , and Δb^* are relative changes in colour after caffeine treatment; L^* is lightness from 0 (black) to 100 (white), a^* is chromaticity coordinate + (red) or – (green), and b^* is chromaticity coordinate + (yellow) or – (blue).

The surface free energy (SFE) and contact angle of water (CA_{water}°) before and after caffeine treatment were evaluated using a Krüss DSA 30E goniometer (Krüss, Hamburg, Germany) with Krüss software (Krüss, Hamburg, Germany) and an ORWK model for determination of SFE in $mN.m^{-2}$. The sessile drop method with a dosing volume of 5 μL was used in all cases, and the measurements were performed 5 s after the deposition (according to Petrić and Owen 2015). Distilled water was used as the polar liquid and diiodomethane as the non-polar liquid for SFE evaluation. Ten repetitions were measured per sample type (totally on 5 samples with dimensions of 50 × 25 × 15 mm) across all treatments (SFE, CA_{water}°). The longitudinal compressive strength in the oven dry state was tested on samples U-O and C-O (see Table 1) in accordance to the standards ČSN 49 0101 (1980), ČSN 49 0108 (1993) and ČSN 49 0110 (1980) using 20 × 20 × 30 mm (RxTxL) samples. Twenty samples for tested kinds of treatment were oven dried at 103 ± 2 °C. The oven-dry density (by ČSN 49 0108, 1993) of the samples was U-O = 411 (±14) $kg.m^{-3}$ (mean; SD) and C-O = 412 (±13) $kg.m^{-3}$ (mean; SD). Samples for compressive strength were conditioned at a relative air humidity of 65% ± 5% and a temperature of 20 °C ± 2 °C. The strength was determined using a Tira 50 kN (Tira GmbH, Schalkau, Germany). STATISTICA software (StatSoft, Palo Alto, CA, USA) was used to generate mean (Mean), standard deviations (SD), Tukey HSD test at a 95% significance level and linear regression analyses.

3. Results and discussion

3.1. Decay resistance

Results show that caffeine-treated wood had a higher resistance to the wood-decay fungus *Rhodonia placenta*, however, a significant improvement in resistance occurred only without exposure to subsequent ageing (Table 2). The fungicidal activity was reduced after leaching in distilled water according to EN 84 (1997), however, partly also after accelerated artificial weathering in the Xenotest (Table 2).

Caffeine in samples not subjected to accelerated ageing (Table 2) revealed biocidal effect comparable to the commercial fungicide (Δm C-O = 1.40%, Δm B-O = 0.00%; $p = 0.90$ using the Tukey HSD test). This result confirms the previous observation on a strong biocidal potential of caffeine in a growth medium (Arrora et al., 1997; Barbero-López et al., 2018), and also to protect wood

(Lekounougou et al., 2008; Broda et al., 2018; Kwaśniewska-Sip et al., 2018, 2019; Ratajczak et al., 2018). In opposite to our work, the cited works studied only fungicidal effect: a) of tea leaves (Arrora et al., 1997); b) of spent coffee ground extracts (Barbero-López et al., 2018) in growth media, or c) of caffeine protective effect on permeable wood species (EN 350, 2016: beech, *Fagus sylvatica*; pine sapwood, *Pinus sylvestris*) after their vacuum-pressure impregnation (Broda et al., 2018; Kwaśniewska-Sip et al., 2018, 2019; Ratajczak et al., 2018). Also, the caffeine treated samples were still not tested after exposure in Xenotest using spraying of samples by distilled water during artificial weathering, only other ageing procedures were done (Broda et al., 2018; Ratajczak et al., 2018; Kwaśniewska-Sip et al., 2019). Results obtained in this work, however the firsts showed applicability of the caffeine treatment for spruce wood - known for extremely difficult impregnability (Lehringer et al., 2009, EN 350, 2016) - using moreover a simple dipping technology. Ratajczak et al. (2018) already used hydrophobic treatment with organosilanes, but in our work a mixture of hydrophobic agents was tested (silane-siloxane emulsion, wax emulsion diluted in water and microscopic glass particles). These are characterized with a higher potential to produce deeper penetration into the porous structure of the wood (in particular waxes and silane-siloxanes emulsion) and also to protect the surface of the wood samples (by waxes in combination with microscopic glass particles). The SEM figure combined with elemental composition analyses show distribution of silicone (Si) contained in silane-siloxane emulsion and glass microparticles (Fig. 1).

We observed a similar synergistic effect between caffeine and hydrophobic compounds as Ratajczak et al. (2018) and Broda et al. (2018), although the overall variability was rather high in some cases (Table 2). The mass losses (Δm) were sometimes even higher after hydrophobic treatment (see O vs. H in Table 2), but they were not significantly different ($p > 0.05$). Poorer performance of our approach in comparison with previous study Ratajczak et al. (2018) and Broda et al. (2018) may be explained by lower impregnability of spruce mature-wood compared to pine sapwood (EN 350, 2016), and thus to a faster leaching of caffeine deposited only in surface layer of treated spruce wood through the thin hydrophobic film. Organosilanes and hydrophobizing nanoparticles alone do not produce satisfactory fungicidal activity (Reinprecht et al., 2013), it is advisable to continue testing new combinations of hydrophobic waxes, alkoxy-silanes and nanoparticles or other final treatments. Anti-moulding efficacy of caffeine on treated wood combined with coating applications seems to be promising (Pánek et al., 2020).

3.2. Termite resistance

Termites can damage wood applied also in interiors with relatively low moisture content (Amusant et al., 2009; Mubarak et al., 2020). This opens a new avenue of research using caffeine as the

Table 2

Mass loss (Δm) of the tested wood samples after 16 weeks of degradation by EN 113 with *Rhodonia placenta*. REF-P (Pine sapwood), U – Untreated spruce, C – Caffeine in spruce, B – Bochemit QB biocide in spruce, O – Without hydrophobic paint, H – With hydrophobic paint.

Set of samples	Reference Pine	Spruce Untreated - U		Spruce Caffeine treated - C		Spruce Bochemit treated - B	
	REF-P	U-O	U-H	C-O	C-H	B-O	B-H
Ageing type	Loss of mass by <i>R. placenta</i> Δm (%)						
Without ageing	19.99 ^{ab} (1.10)	12.37 ^b (1.29)	11.46 ^b (0.75)	1.40 ^a (1.01)	2.65 ^{ab} (0.47)	0.00 ^a	0.00 ^a
Leaching by EN 84	–	9.42 ^b (1.66)	11.31 ^b (1.42)	14.85 ^{ab} (1.29)	10.52 ^b (1.47)	0.01 ^a (0.02)	1.26 ^a (0.95)
Weathering in Xenotest	–	15.14 ^b (1.81)	9.33 ^b (1.19)	3.10 ^a (1.06)	4.13 ^{ab} (1.20)	0.08 ^a (0.15)	0.00 ^a

Note: Mean values are from 4 replicates; Numbers in parentheses are SD; Tukey HSD test at 95% significance level.

^a Δm statistically significantly different in comparison with untreated spruce samples after the same following hydrophobic (H) and ageing procedures.

^b Δm statistically significantly higher in comparison with Bochemit QB treated spruce samples after the same following hydrophobic (H) and ageing procedures.

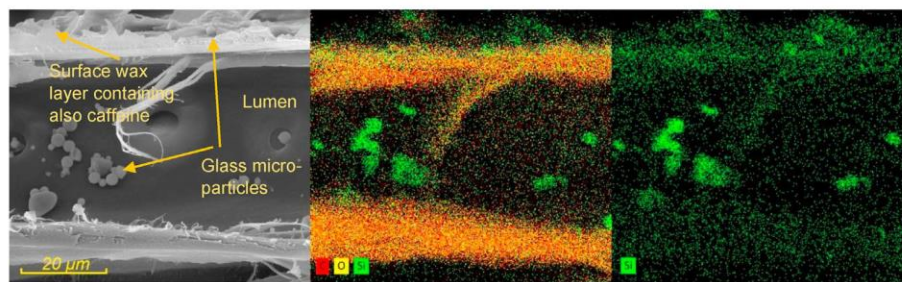


Fig. 1. SEM micrograph of the surface layer of spruce heartwood treated with caffeine solution and a hydrophobic substance. The elemental composition analyses focused on Si showed the presence of higher concentrations of silane-siloxane compounds in cell wall structure and glass micro-particles on the surface and lumen of tracheid.

protective agent of wood devoid of water leaching (also within roofed structures defined as using classes 1 and 2 by EN 335 (2013)), which much reduces the treatment efficacy (Table 3, Fig. 2). Average mass loss of caffeine treated spruce wood samples (C-O) was $\Delta m = 0.58\%$ in comparison with untreated one (U-O) achieved $\Delta m = 3.36\%$. Result was not statistically significant at 95% level using Tukey HSD test (Table 3), but p -value was relatively low (p -value = 0.07). Our results show that the realised preservation is comparable to the commercial biocide, but without the negative environmental implications. Weight loss of the commercial fungicide (B-O) showed virtually the same results (average 0.20%; p -value for comparison between caffeine and standard fungicide equals to 0.99; Table 3). Results given by mass losses were confirmed by determination of termite worker survival (Table 3).

3.3. Quantification of the caffeine, changes of selected mechanical and physical properties

Find the progress of caffeine leaching from the wood surface in Table 4 - results were achieved using LC/MS analyses. Table 4 shows that water leaching caused up to an order of magnitude decrease in the concentration of caffeine in the wood. This corresponds to the results of the mycological (Table 2) and termite resistance (Table 3) tests. Weathering in Xenotest resulted into higher variability of caffeine concentration, but on the other hand also lower reduction of the caffeine contents in the wood blocks in comparison with water leaching by EN 84 (1997), which also corresponds to lower weight loss (Tables 2 and 3). The results showed, that treatment of non-permeable spruce mature wood by dipping in caffeine solution was sufficient for increased bio-resistance (Tables 2 and 3), although the higher concentrations of caffeine occurred only in the thin surface layer (Table 4). Weight losses caused by *R. placenta*

(Fig. 3) and *R. flavipes* (Fig. 4) were regressed against caffeine concentration in the surface layer of spruce wood before and after ageing (Table 4). Our results show a high potential of caffeine to inhibit the growth of wood-decaying fungi ($R^2 = 0.60$), and to prevent termites from feeding at such wood ($R^2 = 0.74$) (Figs. 3 and 4).

Dipping in caffeine to produce shallow penetration did not reduce the longitudinal compressive strength of spruce wood. The compressive strength of spruce wood after caffeine treatment (C-O) and air conditioning was 44.1 MPa ($SD = 4.0$ MPa), while it was 43.5 MPa without caffeine treatment (U-O) ($SD = 2.5$ MPa), and these differences are insignificant. Colour parameters of spruce wood were unchanged after the caffeine dipping (C-O): compare values $L^* = 84.2$ ($SD = 0.5$), $a^* = 3.9$ ($SD = 0.2$), $b^* = 22.0$ ($SD = 0.7$) with $L^* = 85.0$ ($SD = 0.6$), $a^* = 3.5$ ($SD = 0.4$), $b^* = 21.5$ ($SD = 0.5$) for the wood without any treatment. The external appearance of the wood from the outside, expressed as ΔE^* , was less than 3 (Oltean et al., 2008). Surface characteristics of the caffeine-treated spruce wood improved significantly (Table 5), especially wetting with water (CA_{water}°), as well as the surface free energy (SFE), which are linked to an improved adhesion of coatings or glues (de Meier 2005; Pizzi and Mittal 2011).

Based on the effectiveness of caffeine against termites (see Table 3) and other insects or animal pests (Nathason 1984; Khoshraftar et al., 2019; Klein et al., 2020), we can predict its usefulness against other important wood-boring beetles, such as *Anobium punctatum* or *Hylotrupes bajulus*. But, this assumption must be tested and scientifically verified according to valid standards (for example according to EN 46 (2016) and EN 49 (2016)) in the next steps. Dipping of spruce wood in aqueous caffeine solutions effectively protected it against wood-decay fungi (Arrora et al., 1997; Kwaśniewska-Sip et al., 2018; Ratajczak et al., 2018,

Table 3

Mass loss (Δm) of the tested wood samples and survival of termites after 6 weeks of termite attack by EN 118. U – Untreated spruce, C – Caffeine in spruce, B – Bochemit QB biocide in spruce, O – Without hydrophobic paint, H – With hydrophobic paint.

Set of samples	Spruce Untreated - U		Spruce Caffeine treated - C		Spruce Bochemit treated - B	
	U-O	U-H	C-O	C-H	B-O	B-H
Ageing type	Loss of mass by termites Δm (%)					
Without ageing	3.36 ^b (1.70)	3.91 ^b (2.28)	0.53 (0.40)	1.87 (1.20)	0.20 ^a (0.30)	0.00 ^a
Leaching by EN 84	4.38 ^b (1.41)	4.12 ^b (1.80)	4.15 ^b (1.98)	4.09 (1.59)	0.21 ^a (0.26)	0.04 ^a (0.11)
Weathering in Xenotest	2.21 (1.16)	3.60 ^b (2.42)	2.88 (1.60)	3.41 (2.05)	0.56 (0.55)	0.05 ^a (0.12)
Ageing type	Survival of termites (%)					
Without ageing	38.74 (11.04)	35.80 (11.65)	0.86 (2.12)	0.00	0.00	0.00
Leaching by EN 84	53.53 (5.41)	53.45 (12.65)	49.19 (9.78)	48.46 (19.81)	0.00	0.00
Weathering in Xenotest	50.34 (11.30)	53.13 (14.80)	49.46 (18.10)	45.75 (12.93)	0.00	0.00

Note: Mean values are from 6 replicates; Numbers in parentheses are SD; Tukey HSD test at 95% significance level.

^a Δm statistically significantly different in comparison with untreated spruce samples after the same following hydrophobic (H) and ageing procedures.

^b Δm statistically significantly higher in comparison with Bochemit QB treated spruce samples after the same following hydrophobic (H) and ageing procedures.

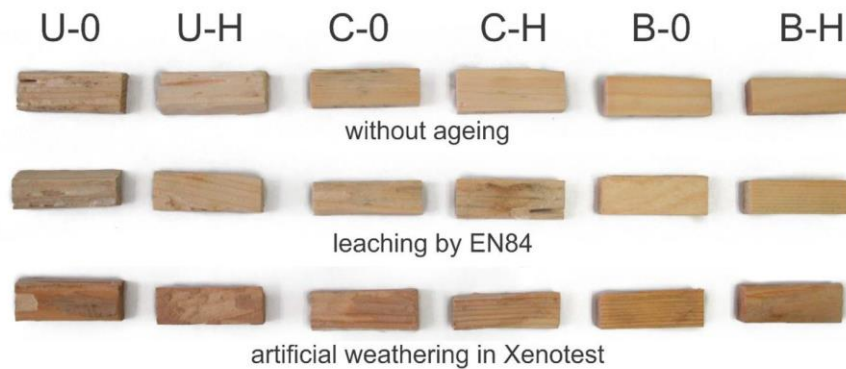


Fig. 2. Photo of tested spruce wood samples after 6 weeks of termite exposure. U – Untreated spruce, C – Caffeine in spruce, B – Biocide Bochemit QB in spruce, O – Without hydrophobic paint, H – With hydrophobic paint.

Table 4
Concentrations of caffeine (mg of caffeine/kg of spruce wood) in 3 layers of treated samples of the Norway spruce wood after different ageing procedures.

Kind of samples	Depth of samples layer	Ageing method		
		Without ageing	Leaching by EN 84	Weathering in Xenotest
Untreated (U)	0.0–0.5 mm	0.00	0.00	0.00
	0.5–1.0 mm	0.00	0.00	0.00
	1.0–1.5 mm	0.00	0.00	0.00
Caffeine (C-O)	0.0–0.5 mm	8104.89 (477.50)	932.10 (85.66)	2478.57 (756.56)
	0.5–1.0 mm	2900.04 (210.27)	1120.53 (197.08)	2209.16 (514.39)
	1.0–1.5 mm	1488.20 (551.04)	851.67 (136.64)	853.17 (463.66)
Caffeine + Hydrophobic (C-H)	0.0–0.5 mm	9748.93 (503.38)	515.32 (67.22)	2469.98 (843.07)
	0.5–1.0 mm	2380.27 (412.82)	652.75 (153.30)	306.41 (218.08)
	1.0–1.5 mm	1327.69 (137.69)	666.68 (148.62)	238.54 (132.93)

Note: Values represent Mean values of caffeine concentration of caffeine in wood and standard deviations (in parentheses).

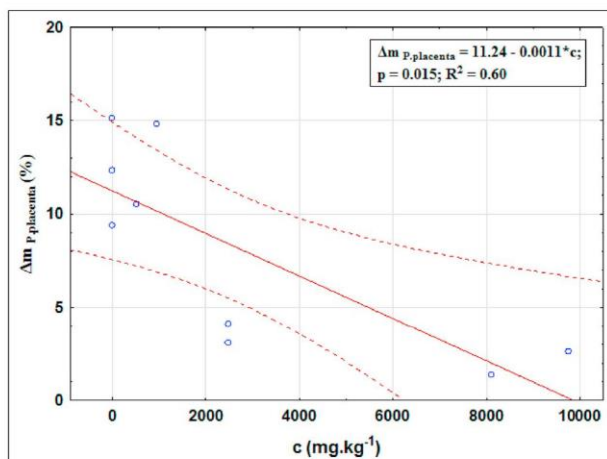


Fig. 3. Linear regression between mass loss (Δm in %) of spruce wood degraded by *R. placenta* (U-O, C-O, C-H) and caffeine concentration in the surface layer of wood (see also Table 4).

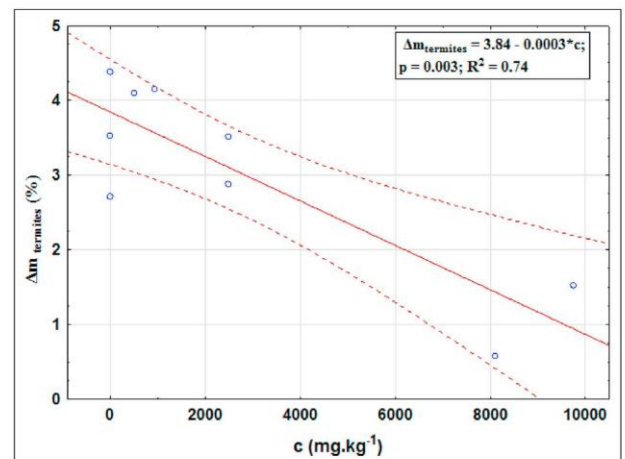


Fig. 4. Linear regression between mass loss (Δm in %) of spruce wood degraded by *R. flavipes* (U-O, C-O, C-H), and caffeine concentration in the surface layer of wood (see also Table 4).

and Table 2), and against termites (Table 3), the most destructive timber insects (Su 2019). Biocidal effectiveness of only thin protective layer (Tables 2–4) in refractory spruce heartwood showed potential of dipping in caffeine solution also for protection of other non-permeable and non-durable kinds of woods. Fungicidal effect of caffeine have been attributed to alternation of the cell wall architecture leading to an increases of β -glucans and chitin content (Lekounougou et al., 2007) which leads to loss of structural

integrity of the fungal cell wall (Kwasniewska-Sip et al., 2018). The insecticidal effect was attributed by Nathason (1984) to inhibition of phosphodiesterase activity and to an increase in intracellular cyclic adenosine monophosphate. Based on work of Ohmura et al. (2006), the authors assume that caffeine treated spruce wood was not attractive for termites due to its bitter taste. Caffeine treatment could be useful, especially for indoor timber (risk of insects damage in some cases), for wooden construction under

Table 5
Water contact angle (CA°) and surface free energy (SFE) of the Norway spruce wood without and with caffeine treatment.

	CA° water	SFE (mN.m ⁻²)	Disperse	Polar
Untreated spruce (U-O)	105.56 (16.41)	30.48 (7.45)	30.47 (7.10)	0.01 (0.36)
Caffeine treated spruce (C-O)	83.37 (13.61)	43.97 (9.42)	42.77 (5.96)	1.19 (3.47)

roofing without full rain action, and decreases risk of bio-attack if condensation occurs. Based on achieved results, authors argue for its broader use. The outdoor caffeine applications should be accompanied with additional wood protection with suitable hydrophobic layers or coatings (Broda et al., 2018; Ratajczak et al., 2018; Pánek et al., 2020). Based on our results, caffeine should be considered as an affordable candidate to replace some commercial fungicides and insecticides, organic or inorganic, that are often severely detrimental for the environment (Lekounougou et al., 2008; Reinprecht 2016; Sandberg 2016). Also, the way to strongly bind caffeine to lignocellulose matrix of wood should be seriously studied (Kwasniewska-Sip et al., 2021) for the sake of future generations.

4. Conclusions and future prospects

The results of this work provide evidence of caffeine usefulness for Norway spruce wood protection, as the 2% aqueous solution applied by the simple technology of long-term dipping method significantly increased the spruce wood resistance to the brown-rot fungus *Rhodonia placenta* and the termite *Reticulitermes flavipes*, both being the model organisms causing severe wood biodegradation. The caffeine treatment does not alter the longitudinal compressive strength and colour of the spruce wood, and a slightly increase in its wettability and surface free energy - advantageous for its certain additional treatments, mainly gluing and finishing. The leaching of the caffeine-treated wood (mainly according to EN 84) reduces the protection to the level of untreated wood, and should thus be avoided. The hydrophobic treatments used showed only a limited improvement to the caffeine-treated wood durability, and additional research needed to optimise the caffeine, in combination with other preservatives to maintain the wood quality also in the outdoor conditions. Future prospects in the use of caffeine as wood-protecting agent comprise additional research on possibilities for binding of caffeine into wood chemical matrix to prevent its leaching by water. Also, other natural products with combined fungicide and insecticide properties should be included in the future studies. In parallel, there is a strong need of improved hydrophobic layers highly durable against weathering on wood surfaces that will make caffeine and other eco-friendly preservatives useful in protection of outdoor timber.

CRediT authorship contribution statement

Kristýna Šimůnková: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Writing – original draft, Visualization. **Ladislav Reinprecht:** Investigation, Resources, Writing – review & editing. **Jana Nábělková:** Investigation, (LC/MS analyses), Data curation. **Štěpán Hýsek:** Investigation, (SEM-analyses). **Jiří Kindl:** Investigation. **Vlastimil Borůvka:** Investigation. **Tereza Lišková:** Investigation, Data curation. **Jan Šobotník:** Methodology, Resources, Writing – review & editing. **Miloš Pánek:** Conceptualization, Methodology, Data curation, Writing – original draft, Resources, All of the authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

This research was supported by the Czech Science Foundation, Project No. 19-02067S “The effects of methylxanthine-based biocides on the properties of constructional timber”, by grant “EVA 4.0”, No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000803 financed by OP RDE, by the project of Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-17-0583, and JŠ was supported by the Internal Grant Agency of Faculty of Tropical AgriSciences (project No. 20205014). We are grateful to Prof. David Sillam-Dussès (Université Paris 13, France) for kind provision of necessary termite material.

References

- Amusant, N., Arnould, O., Pizzi, A., Depres, A., Mansouris, R.H., Bardet, S., Baudassé, Ch., 2009. Biological properties of an OSB eco-product manufactured from a mixture of durable and non-durable species and natural resins. *Eur. J. Wood Prod.* 67, 439–447. <https://doi.org/10.1007/s00107-009-0335-z>.
- Arora, D.S., Kaur, G.J., Kaur, H., 2009. Antibacterial activity of tea and coffee: their extracts and preparations. *Int. J. Food Prop.* 12, 286–294. <https://doi.org/10.1080/10942910701675928>.
- Arora, D.S., Ohlan, D., 1997. In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *J. Basic Microbiol.* 37, 159–165.
- Bahmani, M., Schmidt, O., Fathi, L., Frühwald, A., 2016. Environment-friendly short-term protection of palm wood against mould and rot fungi. *Wood Mater. Sci. Eng.* 11, 239–247. <https://doi.org/10.1080/17480272.2014.981581>.
- Bahmani, M., Schmidt, O., 2018. Plant essential oils for environment-friendly protection of wood objects against fungi. *Maderas Cienc. Tecnol.* 20, 325–332. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2018005003301>.
- Barbero-López, A., Ochoa-Retamero, A., López-Gómez, Y., Vilppo, T., Venäläinen, M., Lavola, A., Julkunen-Tiito, R., Haapala, A., 2018. Activity of spent coffee ground cinnamates against wood-decaying fungi *in vitro*. *BioResources* 13, 6555–6564. <https://doi.org/10.15376/biores.13.3.6555-6564>.
- Brocco, V.F., Paes, J.B., da Costa, L.G., Brazolin, S., Arantes, M.D.C.H., 2017. Potential of teak heartwood extracts as a natural wood preservative. *J. Cleaner. Prod.* 142, 2093–2099. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.074>.
- Broda, M., Mazela, B., Frankowski, M., 2018. Durability of wood treated with AAT-MOS and caffeine – towards the long-term carbon storage. *Maderas Cienc. Tecnol.* 20, 455–468. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2018005031501>.
- Coulson, J., 2012. *Wood in Construction: How to Avoid Costly Mistakes*. Wiley-Blackwell, ISBN 978-0-470-65777-5, p. 220.
- ČSN 49 0101, 1980. *Wood. General requirements for physical and mechanical testing*. Office for Standardization and Measurement, Prague, Czech Republic, p. 12.
- ČSN 49 0108, 1993. *Wood. Determination of the density*. Czech Standard Institute, Prague, Czech Republic, p. 8.
- ČSN 49 0110, 1980. *Wood. Compression strength limits parallel to the grain*. Office for Standardization and Measurement, Prague, Czech Republic, p. 8.
- de Meier, M., 2005. *A Review of Interfacial Aspects in Wood Coatings: Wetting, Surface Energy, Substrate Penetration and Adhesion*. COST E18 Final Seminar, p. 16. <https://www.researchgate.net/publication/260601859>.
- EN 46, 2016. *Wood preservatives – Determination of the preventive action against Hylotrupes bajulus (Linnaeus) – Part 1: Against recently hatched larvae (Laboratory method); Part 2: Ovicidal effect. (Laboratory method)*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 30.
- EN 49-1, 2016. *Wood preservatives – Determination of the protective effectiveness against Anobium punctatum (De Geer) by egg-laying and larval survival – Part 1: Application by surface treatment (Laboratory method)*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 22.
- EN 84, 1997. *EN 84: Wood Preservatives – Accelerated Ageing of Treated Wood Prior to Biological Testing – Leaching Procedure*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 10.

- EN 113, 1996. Wood Preservatives - Test Method for Determining the Protective Effectiveness against Wood Destroying Basidiomycetes. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 28.
- EN 118, 2013. Wood preservatives – Determination of preventive action against Reticulitermes species (European termites) (Laboratory method). European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 22.
- EN 335, 2013. Durability of Wood and Wood-Based Products—Use Classes: Definitions. Application to Solid Wood and Wood-Based Products. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 14.
- EN 350, 2016. Durability of wood and wood-based products – Testing and classification of the durability to biological agents of wood and wood-based materials. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 72.
- EN 927-6, 2018. Paints and Varnishes. Part 6: Exposure of Wood Coatings to Artificial Weathering Using Fluorescent UV Lamps and Water, In Coating Materials and Coating Systems for Exterior Wood. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 27.
- Evans, T.A., Forschler, B.T., Grace, J.K., 2013. Biology of invasive termites: a world-wide review. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 455–474. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153554>.
- Feirer, J.L., Hutchings, G.A., 1986. *Carpentry and Building Construction*. Glencoe Publishing Company, ISBN 0026673908, p. 1120.
- Feist, W.C., 1990. Outdoor wood weathering and protection (Chapter 11). In: *Advanced in Chemistry, Series No. 225*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 263–298. <https://doi.org/10.1021/ba-1990-0225.ch011>.
- Hadi, Y.S., Massijaya, M.Y., Nandika, D., Arsyad, W.O.M., Abdillah, I.B., Setiono, L., Amin, Y., 2020. Color change and termite resistance of fast-growing tropical woods treated with kesambi (*Schleichera oleosa*) smoke. *J. Wood Sci.* 66 (61), 10. <https://doi.org/10.1186/s10086-020-01906-y>.
- Hickin, N.E., 1963. *The Insect Factor in Wood Decay: an Account of Wood-boring Insects with Particular Reference to Timber Indoors*. Hutchinson, London, ISBN 978-0852271018, p. 336.
- Hill, C.A.S., 2006. *Wood Modification—Chemical, Thermal and Other Processes*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK, ISBN 978-0-470-02172-9, p. 239.
- Kartal, S.N., Hwang, W.J., Imamura, Y., Sekine, Y., 2006. Effect of essential oil compounds and plant extracts on decay and termite resistance of wood. *Holz Roh Werkst* 64, 455–461. <https://doi.org/10.1007/s00107-006-0098-8>.
- Kataoka, Y., Kiguchi, M., Williams, R.S., Evans, P.D., 2007. Violet light causes photodegradation of wood beyond the zone affected by ultraviolet radiation. *Holzforschung* 61, 23–27. <https://doi.org/10.1515/HF.2007.005>.
- Khoshrافت, Z., Shamel, A., Safekordi, A.A., Zaefizadeh, M., 2019. Chemical composition of an insecticidal hydroalcoholic extract from tea leaves against green peach aphid. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 7583–7590. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2177-x>.
- Klein, M.L., Chastain, T.G., Garbacik, C.J., Qian, Y.P.L., Mc Donnell, R.J., 2020. Acute toxicity of essential oils to the pest slug *Deroceras reticulatum* in laboratory and greenhouse bioassays. *J. Pest. Sci.* 93, 415–425. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01154-0>.
- Kwaśniewska-Sip, P., Bartkowiak, M., Cofta, G., Nowak, P.B., 2019. Resistance of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) after treatment with caffeine and thermal modification against *Aspergillus niger*. *BioResources* 14, 1890–1898. <https://doi.org/10.15376/biores.14.1.1890-1898>.
- Kwaśniewska-Sip, P., Cofta, G., Nowak, P.B., 2018. Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 132, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.007>.
- Kwaśniewska-Sip, P., Woźniak, M., Jankowski, W., Ratajczak, I., Cofta, G., 2021. Chemical changes of wood treated with caffeine. *Materials* 14, 497. <https://doi.org/10.3390/ma14030497>.
- Lehringer, C.H., Richter, K., Schwarze, F.W.M.R., Militz, H., 2009. A review on promising approaches for liquid permeability improvement in softwoods. *Wood Fiber Sci.* 41, 373–385.
- Lekounougou, S., Jacquot, P., Gérardin, P., Gelhaye, E., 2008. Effects of propiconazole on extra-cellular enzymes involved in nutrient mobilization during *Trametes versicolor* wood colonization. *Wood Sci. Technol.* 42, 169–177. <https://doi.org/10.1007/s00226-007-0158-1>.
- Lekounougou, S., Ondo, J.P., Jacquot, J.P., Nevers, G., Gérardin, P., Gelhaye, E., 2007. Effects of Caffeine on Growth of Wood-Decaying Fungi. The International Research Group on Wood Protection. IRG/WP, Stockholm, Sweden, 07-30427.
- Lowor, S.T., 2008. Studies on the chemical composition and storage parameters of sun-dried Kola nuts. *Afr. J. Agric. Res.* 3, 130–133. ISSN 1991-637X.
- Mantanis, G.I., 2017. Chemical modification of wood by acetylation of furfurylation: a review of the present scaled-up technologies. *BioResources* 12, 4478–4489. <https://doi.org/10.15376/biores.12.2.Mantanis>.
- Mubarok, M., Militz, H., Darmawan, W., Hadia, Y.S., Dumarçay, S., Gérardin, P., 2020. Resistance against subterranean termite of beech wood impregnated with different derivatives of glycerol or polyglycerol and maleic anhydride followed by thermal modification: a field test study. *European J. Wood and Wood Prod.* 78, 387–392. <https://doi.org/10.1007/s00107-020-01503-2>.
- Nathason, J.A., 1984. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science* 226, 184–187. <https://doi.org/10.1126/science.6207592>.
- Ohmura, W., Ozaki, M., Yamaoka, R., 2006. Behavioral and electrophysiological investigation on taste response of the termite *Zootermopsis nevadensis* to wood extractives. *J. Wood Sci.* 52, 261–264. <https://doi.org/10.1007/s10086-005-0752-5>.
- Oltean, L., Teischinger, A., Hansmann, Ch., 2008. Wood surface discolouration due to simulated indoor sunlight exposure. *Holz Roh Werkst* 66, 51–56. <https://doi.org/10.1007/s00107-007-0201-9>.
- Pánek, M., Reinprecht, L., Hulla, M., 2014. Ten essential oils for beech wood protection – efficacy against wood-destroying fungi and moulds, and effect on wood discoloration. *BioResources* 9, 5588–5603.
- Pánek, M., Šimůnková, K., Novák, D., Dvořák, O., Schönfelder, O., Šedivka, P., Kobeticová, K., 2020. Caffeine and TiO₂ nanoparticles treatment of spruce and beech wood for increasing transparent coating resistance against UV-radiation and mould attacks. *Coatings* 10, 1141. <https://doi.org/10.3390/coatings10121141>.
- Peláez, P.P., Guerra, S., Contreras, D., 2016. Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria* 7, 111–119. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.02.04>.
- Petric, M., Oven, P., 2015. Determination of wettability of wood and its significance in wood science and technology: a Critical Review. *Rev. Adhesion and Adhesives* 3, 121–187. ISSN 2168-0973.
- Pizzi, A., Mittal, K.L., 2011. *Wood Adhesives Hardcover*, first ed. CRC Press, ISBN 978-9004190931, p. 462.
- Požgaj, A., Chovanec, D., Kurjatko, S., Babiak, M., 1993. *Štruktúra a Vlastnosti Dreva. Structure and Properties of Wood*, first ed. Bratislava Příroda a.s., ISBN 80-07-00600-1, p. 485.
- Ratajczak, I., Woźniak, M., Kwaśniewska-Sip, P., Szentner, K., Cofta, G., Mazela, B., 2018. Chemical characterization of wood treated with a formulation based on propolis, caffeine and organosilanes. *European J. Wood and Wood Prod.* 76, 775–781. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1257-9>.
- Reinprecht, L., 2016. *Wood Deterioration, Protection and Maintenance*, first ed. Wiley-Blackwell, Hoboken, p. 376. <https://doi.org/10.1002/9781119106500>. NJ, USA.
- Reinprecht, L., Pánek, M., Daňková, J., Murínová, T., Mec, P., Plevová, Z., 2013. Performance of methyl-tripotassiumsilanol treated wood against swelling in water, decay fungi and moulds. *Wood Res.* 58, 511–520.
- Sandberg, D., 2016. Additives in wood products—today and future development. In: *Environmental Impacts of Traditional and Innovative Forest-based Bioproducts, Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*. Springer Science+Business Media Singapore, pp. 105–172. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0655-5_4.
- Schmidt, O., 2006. *Wood and Tree Fungi – Biology, Damage, Protection, and Use*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 334. <https://doi.org/10.1007/3-540-32139-X>.
- Singh, T., Singh, A.P., 2012. A review on natural products as wood protectant. *Wood Sci. Technol.* 46, 851–870. <https://doi.org/10.1007/s00226-011-0448-5>.
- Stearns, E.I., 1986. *Colorimetry*, second ed. Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna, Austria, p. 74.
- Su, N.Y., 2019. Development of baits for population management of Subterranean termites. *Annu. Rev. Entomol.* 64, 115–130. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-112429>.
- Tarmian, A., Tajrishi, I.Z., Oladi, R., Efhamisi, D., 2020. Treatability of wood for pressure treatment processes: a literature review. *European J. Wood and Wood Prod.* <https://doi.org/10.1007/s00107-020-01541-w>.
- Ulyshen, M., Sobotnik, J., 2018. In: Ulyshen, M. (Ed.), *An Introduction to the Diversity, Ecology, and Conservation of Saproxylous Insects. Saproxylous Insects. Diversity, Ecology and Conservation*, vols. 1–47. Springer, Cham, Switzerland, ISBN 978-3-319-75936-4. <https://www.springer.com/gp/book/9783319759364>.

4.2 Fungicidní aktivita methylxanthinů na základě jejich vlastností

Dřevěné materiály pro stavební účely mohou být napadeny různými dřevokaznými houbami. Ideální dřevo-konzervační hmota má být ekologická a zdravotně nezávadná.

Z tohoto důvodu byly v této studii analyzovány účinky nejvýznamnějších a netoxických methylxanthinů, jako je kofein a jeho metabolity teobromin a teofylin, na růst plísní spolu s jejich degradovatelností související s jejich vlastnostmi. Agarové testy se čtyřmi dřevokaznými druhy hub (*Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum sepiarium* a *Trametes versicolor*) byly provedeny po 28 dnech expozice látky.

Kofein vykazoval 100% inhibiční účinek na růst hub, na rozdíl od teobrominu, který v tomto ohledu nebyl účinný. Teofylin vykazoval různé účinky na analyzované houby. Analýza rozložitelnosti ukázala perzistenci kofeinu a teobrominu, ale teofylin byl degradován až na 34 %. Vztah toxicity k chemické struktuře studovaných methylxanthinů ukázal dipólový moment a lipofilitu jako důležité parametry ovlivňující antifungální vlastnosti. Kofein i teofylin jsou vhodnými potenciálními kandidáty na antimykotické účinné látky.

Zpracováno na základě článku s IF 1,409 (2019) ve WoS:

KOBETIČOVÁ, K., NÁBĚLKOVÁ, J., ĎURIŠOVÁ, K., ŠIMŮNKOVÁ, K., & ČERNÝ, R. (2020). Antifungal activity of methylxanthines based on their properties. *BioResources*, **15**(4), 8110.

Antifungal Activity of Methylxanthines Based on Their Properties

Klára Kobetičová,^{a,*} Jana Nábělková,^b Kristýna Ďurišová,^b Kristýna Šimůnková,^c and Robert Černý^a

Wood materials for construction purposes can be attacked by various wood-destroying fungi. An ideal wood-preserving substance is supposed to be environment- and health-friendly. For this reason, the effects of the most relevant and non-toxic methylxanthines, such as caffeine and its metabolites theobromine and theophylline, on fungal growth, together with their degradability related to their properties were analyzed in this study. Agar tests with four wood-destroying fungal species (*Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana*, *Gleophyllum sepiarium*, and *Trametes versicolor*) were performed after 28 days of substance exposure. Caffeine exhibited a 100% inhibitive effect on fungal growth, contrary to theobromine, which was not effective in that respect. Theophylline exhibited variable effects on the analyzed fungi. The analysis of degradability indicated the persistence of caffeine and theobromine, but theophylline was degraded up to 34%. The relation of toxicity to chemical structure of studied methylxanthines indicated the dipole moment and lipophilicity as important parameters affecting the antifungal properties. Both caffeine and theophylline are suitable potential candidates for antifungal active substances.

Keywords: Methylxanthines; Caffeine; Theobromine; Theophylline; Fungi; Antifungal effects

Contact information: a: Department of Materials Engineering and Chemistry, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Thákurova 7/2077, 166 29 Prague 6, Czech Republic; b: Department of Sanitary and Ecological Engineering, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Thákurova 7/2077, 166 29 Prague 6, Czech Republic; c: Department of Wood Processing and Biomaterials, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, Prague 165 00, Czech Republic; *Corresponding author: klara.kobeticova@fsv.cvut.cz

INTRODUCTION

Wood building materials are often attacked by wood-destroying pests. Therefore, various commercially available chemicals are commonly used for wood protection against biodegradation. However, some of these chemicals have been banned presently, and the production and use of some others will be discontinued in the near future.

Modern wood-preserving substances, to meet societal expectations, are supposed to be environment- and health-friendly. A suitable alternative to the previously used chemicals appears to be found in some natural extracts or individual substances with biocidal effects produced by plants for their own protection against pests (Islam *et al.* 2012; Singh and Singh 2012; Lee *et al.* 2018). The use of such natural herbal metabolites in wood preservation systems can reduce the amount of persistent artificial xenobiotics in the environment, while the active substance affects just the target organisms.

Caffeine is a commonly studied biocidal substance (Arora and Ohlan 1997; Lekounougou *et al.* 2007; Ashihara *et al.* 2008; Rahman *et al.* 2014). This type of

methylxanthine is produced by the coffee tree. From the toxicological point of view, caffeine may paralyze or kill some insect species. It was also found that caffeine may be used as a neural poison against gastropods (Thomas 2013). The effect of caffeine on spiders was also confirmed (Hesselberg and Vollrath 2004). When spiders consumed the caffeine-soaked flies, they became disoriented and were unable to properly build their nests. It was also observed (Tiepo *et al.* 2010) that caffeine can be used against termites in tens of grams per kg of dry soil, while it does not have any effect on non-target organisms, such as earthworms, springtails, higher plants, and bacteria. After caffeine application, the termites were not killed, but subsequent communications in the community through pheromones were negatively affected (Tiepo *et al.* 2010). The ecotoxicity and genotoxicity of caffeine for aquatic organisms was not observed (Testolin *et al.* 2012). Pure caffeine (99% purity) was also tested on organisms, such as algae, plant seeds, daphnia, and enchytraeids, and some effects were observed only for concentrations several orders of magnitude higher than those normally occurring in surface waters (Kobetičová *et al.* 2015).

The fungicidal effects of caffeine have been studied by several research groups in the past. Arora and Ohlan (1997) analyzed the effectiveness of tea extracts and pure caffeine against ten species of brown-rot and white-rot fungi in screening tests. Lekounougou *et al.* (2007) tested caffeine against three brown-rot and two white-rot fungi, but only in a combination with commercial propiconazole. Ratajczak *et al.* (2018) investigated the effect of caffeine in combination with organosilanes on impregnated wood, but using only one concentration. Kwasniewska-Sip *et al.* (2018, 2019) studied the effects of caffeine on ten molds and four fungi species under several treatment conditions with varying success.

Caffeine can be degraded to its natural metabolites theophylline and theobromine. Both these substances are quite common in human life. Theophylline is used, *e.g.*, in therapy for respiratory diseases, while both theobromine and theophylline are present in tea and cocoa. However, their effects against wood-destroying pests have not been studied yet, contrary to caffeine.

In this study, the sensitivity of four fungal species to caffeine and its two metabolites theophylline and theobromine is investigated using *in vitro* tests under laboratory conditions. The methylxanthines used in the study possessed a similar chemical formula. In particular, the variant presence/absence or position of function groups may affect their toxicity to organisms. Therefore, the bioassays aimed at the identification of the effects of caffeine, theophylline, and theobromine on the wood-destroying fungi are performed on agar, excluding their possible interactions with wood materials. Degradation of studied methylxanthines were analyzed as well and the toxicological data were correlated to their properties.

EXPERIMENTAL

Materials

Chemicals

Caffeine (C₈H₁₀N₄O₂), theobromine (C₇H₈N₄O₂), and theophylline (C₇H₈N₄O₂) were purchased from Sigma-Aldrich (Prague, Czech Republic). Maltose agar was purchased from P-Lab (Pardubice, Czech Republic). Deionized (DI) water was used as a solvent for the preparation of methylxanthine solutions and agars. Water stock solutions were prepared up to the solubility limits at 20 °C (caffeine 20 g/L, theobromine 0.33 g/L,

and theophylline 5.5 g/L). The concentration scale for the tested substances was chosen according to the results of previous experiments: Caffeine - 0.125, 0.250, 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, and 20 g/L; theobromine - 0.021, 0.042, 0.0825, 0.165, and 0.330 g/L; theophylline - 0.125, 0.250, 0.5, 1, 2, and 5.5 g/L (Kobetičová *et al.* 2019).

Test species

Serpula lacrymans (Schumacher ex Fries), Karsten (strain BAM Ebw. 315), *Coniophora puteana* (Schumacher ex Fries), Karsten (strain BAM Ebw. 15), *Gleophyllum sepiarium* (Wulfen) Karsten (strain BAM Ebw. 873), and *Trametes versicolor* (Linnaeus ex Freis) Pilat (strain CBS 347.63) were used as model species. They were purchased from Timber Institute Ltd. (Prague, Czech Republic), except for *T. versicolor*, which was donated by the Mycological Department of Technical University of Zvolen (Faculty of Wood Science and Technology, Zvolen, Slovakia).

Growth tests

Tests were performed using the following setup. A 3% (w/w) solution of test substance was prepared by dissolving the required amount in boiling DI water. It was then mixed with maltose agar. The mixture was poured into sterile glass Petri dishes. Three replicates were used for control (pure agar) and all tested substances and concentrations. Approximately 1.0 cm² area of agar covered by fungi hyphae was transferred on the solidified agars. The agar dishes were covered with aluminum foil and stored in a biological chamber under dark with controlled temperature. The specific test conditions were selected on the basis of previous experiments and information obtained from the standard CSN EN 113 (2004). The temperatures corresponded to the optimal growth conditions of the particular species; for *S. lacrymans* and *C. puteana* 20 °C, *G. sepiarium* 27 °C, and *T. versicolor* 35 °C. The evaluation of the tests was performed after 28 days of substance exposure.

Chemical analyses

Titration methods were used for the quantification of methylxanthines. Titration was preferred before other instrumental methods because of the high methylxanthines concentrations (from mg to g range). A stock solution of 3 × 50 mL of each tested substance was prepared. The volumetric flasks containing solutions were kept in thermostats with temperatures corresponding to the test conditions (20, 27, and 35 °C). The titration was performed using a glass burette with 0.1-mL graduation scale. The analysis was specific for each analyzed methylxanthine (Pharmacopoeia 2018a,b; Kobetičová *et al.* 2019).

Equations

Percentage-biomass coverage of agars affected by methylxanthines and controls without caffeine was analyzed by image analysis (NIS Elements, BR version 2.3, Prague, Czech Republic). The areas of plain agar medium and agar overgrown by fungi (in cm²) were marked for each Petri dish. The mean value was calculated for each concentration and control group. The inhibition of growth (in %) was calculated according to the Eq. 1,

$$I = 100((C - S)/C) \quad (1)$$

where *I* is the inhibition of growth (%), *C* is the growth of fungi (%) on control medium (agar without caffeine), and *S* is the growth of fungi (%) on caffeine affected medium (agar with various concentrations of caffeine).

The growth values of each test species were compared (control vs. the tested concentrations) and subjected to a non-parametric analysis of variance (ANOVA) using GraphPad software (GraphPad Company, version 3, San Diego, CA, USA) and the Kruskal-Wallis test. The multiple comparison tests were performed at 0.05 significance levels. The coefficient of determination and linear regression were utilized to define the relationship between toxicity (mode EC_{100} values) and selected properties (dipole moment, lipophilicity, electrophilicity, energy gap, and solubility in water) of studied methylxanthines. The EC_{100} values corresponded to 100% inhibition of fungal growth and their mode values were selected for statistical analyses for more relevancy than mean values in this study.

RESULTS AND DISCUSSION

Sensitivity of Fungi to Methylxanthines

Figure 1 shows the growth of fungi on agar after 28-days of exposure to caffeine. Caffeine was tested in the concentration range of 0.125 to 20 g/L. For the concentrations of 2 g/L and higher, a total inhibition of growth was observed for all fungal species. The least sensitivity was related to *T. versicolor*.

Theophylline (Fig. 2) caused some growth inhibition as well but the sensitivity of each fungus species to this substance was different. Contrary to caffeine, the most sensitive species was *T. versicolor*, followed by *S. lacrymans*, *G. sepiarium*, and the least sensitivity was related to *C. puteana*. Theobromine did not exhibit any effect on the growth of the representative fungal species (Fig. 3).

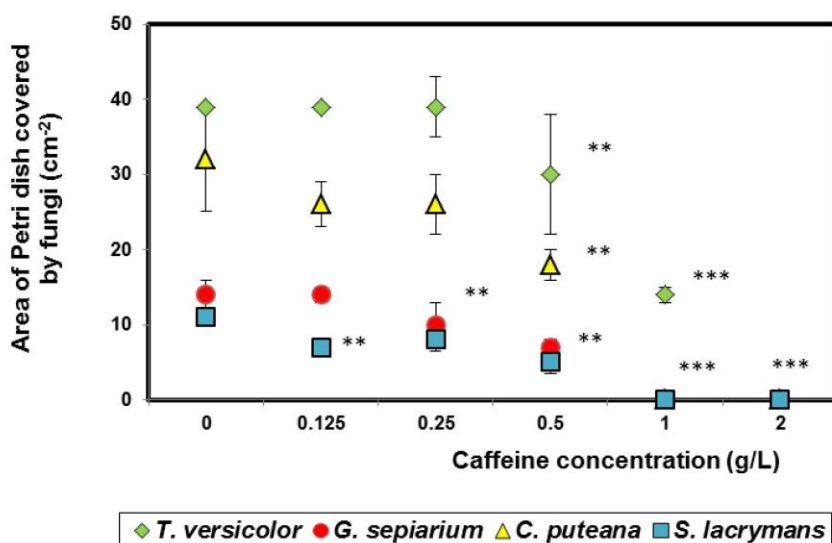


Fig. 1. Growth of fungi *T. versicolor*, *G. sepiarium*, *C. puteana*, and *S. lacrymans* on agar with caffeine (0.125, 0.25, 0.5, 1, and 2 g/L) after 28 days of exposure. Error bars represent the standard deviations. Asterisks represent statistically significant differences, the increasing number of asterisks corresponds to the increasing statistically significant differences ($n = 3$, ANOVA, nonparametric Kruskal-Wallis test, $P > 0.05$ significance level).

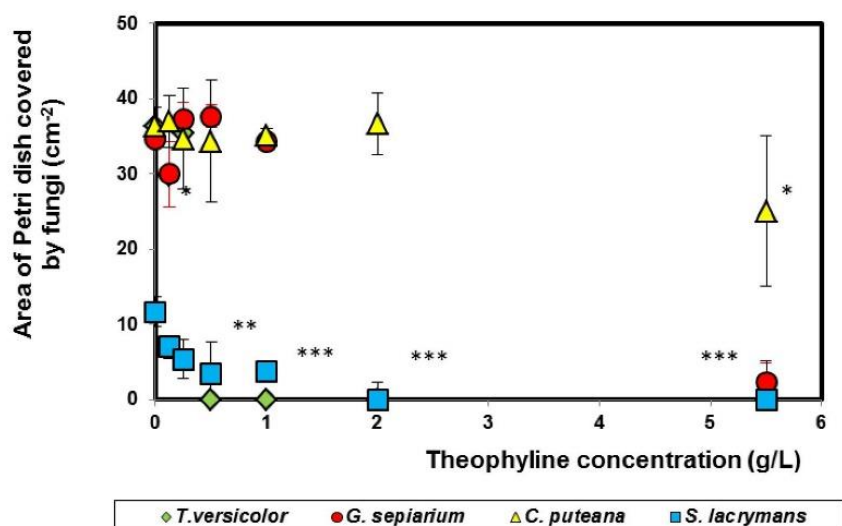


Fig. 2. Growth of fungi *T. versicolor*, *G. sepiarium*, *C. puteana*, and *S. lacrymans* on agar with theophylline (0.125, 0.250, 0.5, 1, 2, and 5.5 g/L) after 28 days of exposure. Error bars represent the standard deviations. Asterisks represent statistically significant differences, the increasing number of asterisks corresponds to the increasing statistically significant differences (n = 3, ANOVA, nonparametric Kruskal-Wallis test, P > 0.05 significance level).

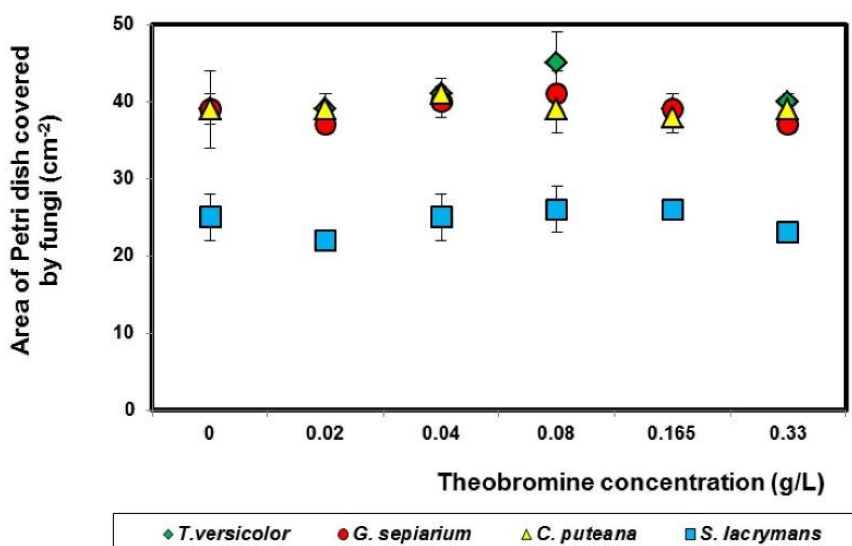


Fig. 3. Growth of fungi *T. versicolor*, *G. sepiarium*, *C. puteana*, and *S. lacrymans* on agar with theobromine (0.02, 0.04, 0.08, 0.165, and 0.33 g/L) after 28 days of exposure. Error bars represent the standard deviations (n = 3, ANOVA, nonparametric Kruskal-Wallis test, P = 0.05 significance level). Comparison of control values (0) with the tested concentrations did not indicate statistically significant differences for all model species.

T. versicolor species is representative of white-rot fungi that can degrade not only lignin but also cellulose and hemicellulose. Therefore, some lignivorous fungi can possibly be less sensitive to caffeine because of their feeding preferences. This hypothesis is based on the general presumption that lignin is a variable polyphenolic amorphous substance

without a regular periodic structure. It is possible that caffeine can interact with lignin containing unknown chemical components, which can protect fungi against the caffeine bioavailability and the following accessibility.

The fungal growth inhibiting capabilities of caffeine, which were shown in this study, were in a good qualitative agreement with Lekounougou *et al.* (2007), who analyzed the effects of caffeine on fungal growth and reported a complete growth inhibition of five species of wood decaying fungi. Kwasnievska-Sip *et al.* (2018) found four species of wood destroying fungi to be sensitive to caffeine application at concentrations 10 g/L or higher. Clearly, the sensitivity of fungi in the present study was higher than that in Kwasnievska-Sip *et al.* (2018), which was due to the use of agar substrate avoiding possible interactions with wood. The results obtained for theophylline and theobromine in this paper could not be compared with any previous investigations, as such research was not reported yet in common literature sources.

Table 1 shows that caffeine and theobromine did not degrade significantly in the sterile environment during the time period of 28 days. Moreover, there was not any significant difference between the results obtained for the individual substances and temperatures. Theophylline was degraded more intensively, up to 34%. Unfortunately, research studies dealing with environmental degradation of methylxanthines are lacking in common literature sources. Most of the previously published papers were focused on monitoring, disposable effects, or removal of caffeine from natural waters (*e.g.*, Costa *et al.* 2019; Lomba *et al.* 2019; De Oliveira *et al.* 2019), not on the time development of methylxanthines' degradation in a specific medium. Therefore, any comparison of data obtained in this study with results presented by other investigators could not be done.

Table 1. Concentration of Caffeine, Theophylline, and Theobromine After 0, 14, and 28 Days at 20, 27, and 35 °C, as Determined by Titration Method

Substance	Temperature	20 °C	27 °C	35 °C
		0/14/28 days	0/14/28 days	0/14/28 days
Caffeine	Concentration (g/L)	20/18.3/18.3	16.7/20/20	18.3/18.3/20
Theophylline		5.5/4.7/3.6	4.1/3.6/3.6	4.0/3.6/3.6
Theobromine		0.3/0.3/0.3	0.3/0.3/0.3	0.3/0.3/0.3

Relation of Toxicity to Chemical, Physical, and Theoretical Properties of Methylxanthines

The observed sensitivity of fungi to studied methylxanthines can be explained by the differences in their chemical, physical, and theoretical properties. Caffeine contains three methyl groups in its structure, contrary to theophylline and theobromine. The functional methyl group in position one is present in caffeine and theophylline, not in theobromine; this might be one of the factors causing the inability of theobromine to stop the growth of fungi. Theobromine with its amide type linkage (containing -N-H group) is a hydrogen donor and has basic as well acid properties. This is different from theophylline and caffeine, which are weak Brönsted bases (Salihovic *et al.* 2014). Theobromine is also the most polar compound according to its electrical dipole moment (Table 2). It is related to the polarity of the molecule and the distribution of the charge. Dipole moment seems to be the most important parameter characterizing the toxicity of studied methylxanthines for fungi (Table 3, Fig. 4).

Table 2. Selected Properties of Caffeine, Theophylline, and Theobromine

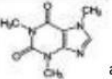
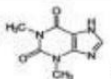
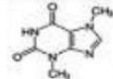
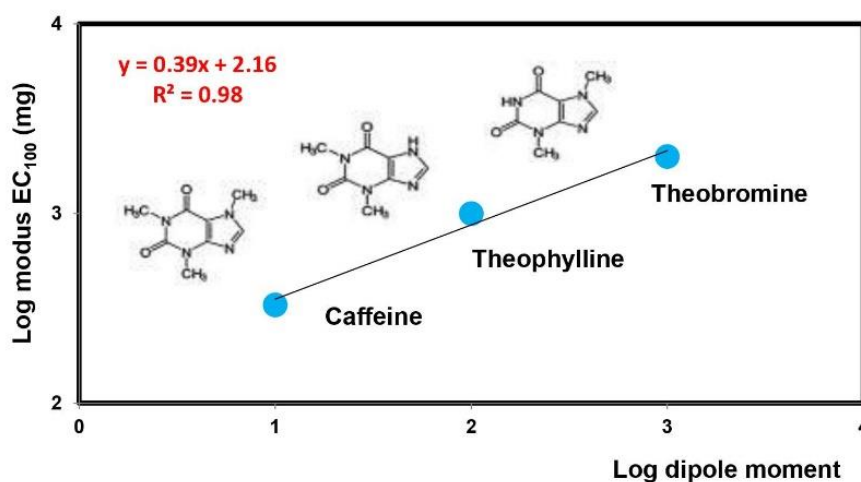
Property	Caffeine	Theophylline	Theobromine	Source
Scheme of Molecule				PubChem 2020a, 2020b, and 2020c
Toxicity (g/L): Mode EC_{100}	1	2	> 0.33	Present study
Solubility in Water (g/L)	20.00 ^a	5.50 ^b	0.33 ^c	PubChem 2020a, 2020b, and 2020c
Lipophilicity - Kow (Log)	-0.77	-0.22	-0.22	Salihovic <i>et al.</i> 2014
Dipole Moment	3.80	3.51	4.30	Salihovic <i>et al.</i> 2014
Energy Gap (Δ)	5.12	5.14	5.13	Salihovic <i>et al.</i> 2014
Electrophilicity (eV)	2.27	2.41	2.37	Salihovic <i>et al.</i> 2014
Chemical Potential (eV)	-3.41	-3.52	-3.49	Salihovic <i>et al.</i> 2014

Table 3. Relations Between Log of Mode EC_{100} Values Obtained From the Toxicity Values of Tested Substances for All Studied Fungi and Selected Properties

Property	Equation of Linear Regression	Deterministic Coefficient (R^2)
Dipole Moment	$y = 0.39x + 2.16$	0.98
Log Kow	$y = -1.15x + 40.20$	0.86
Solubility in Water	$y = 0.33x - 23.14$	0.58
Electrophilicity	$y = -4.5x + 162.00$	0.02
Chemical Potential	$y = -0.93x - 328.27$	0.02

Log values from the Table 2, expressed by linear regression curves and deterministic coefficients (R^2)

**Fig. 4.** Model of linear regression between log of mode EC_{100} estimates from the toxicity values of tested substances for all studied fungi and dipole moment with its the deterministic coefficient (R^2)

Caffeine has a methyl group in position 7 that it cannot donate protons, contrary to theophylline, which can donate protons from position 7 (Salihovic *et al.* 2014). Electrophilicity indicates the capacity of a substance to accept electrons (Spirtovic-Halilovic *et al.* 2013), but this property did not significantly impact the results (Table 3). In contrast, caffeine is the most lipophilic among the tested substances. This property, expressed as log Kow, is correlated with its easier penetration through membranes and possible toxic effects as described in the previous studies (Hecht *et al.* 1992; Kobetičová *et al.* 2011). It appears that this property can explain best the antifungal effects of caffeine in the present study (Fig. 1, Table 3).

Solubility in water is another parameter affecting the toxicity. It is generally known that the amount in excess of the solubility limit does not further contribute to the toxic effect. The tested substances indicated certain order-of-magnitude differences in solubility, ranging from 0.33 g/L to 20 g/L and higher toxicity corresponded with higher solubility (Figs. 1, 2, and 3).

Some previous studies (Rao *et al.* 2005; Tsilirakis *et al.* 2012) showed that caffeine affects the biological cycle of chitin polymer. This polymer is a polysaccharide composed of N-acetyl-D-glucosamine molecules linked by 1,4- β -glycosidic bonds (Duo-Chuan 2006; Gortari and Hours 2008), which also forms a part of fungal cell walls (Tharanathan and Kittur 2003). Rao *et al.* (2005) described the same mode of action of caffeine and theophylline as inhibitors of chitinases (enzymes) through bonding on the non-reducing end of the glycosidic bonds. According to their model, the xanthine rings can create hydrogen bonds with chitinases. In addition, Rao *et al.* (2005) found that caffeine was more toxic than theophylline, which was in a qualitative agreement with the results of this study. Unfortunately, Rao *et al.* (2005) did not test theobromine. Therefore, a complete comparison of the authors' results with their findings on the mode of action and toxicity could not be done.

The lower toxicity of theophylline can be further explained by its more rapid degradation, when compared to caffeine (Table 1, Table 3). In general, the values of coefficients of determination (R^2) indicated that the dipole moment was probably the most important factor affecting the antifungal activity of methylxanthines, followed by lipophilicity and partly solubility in water as properties of potential toxicity and antifungal effects.

CONCLUSIONS

1. The growth inhibition effects of three methylxanthines (caffeine, theobromine, and theophylline) on four wood-destroying fungi (*Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana*, *Gleophyllum sepiarium*, and *Trametes versicolor*) were analyzed by *in vitro* tests. The basic tests were complemented by the investigation of degradability of applied methylxanthines. The experiments were performed on agar medium at defined laboratory conditions for 28 days.
2. The dipole moment and lipophilicity were identified as important parameters affecting the antifungal properties of studied methylxanthines.
3. The analyzed wood-destroying fungi belong to the most dangerous species for the wood construction industry. In this paper, theobromine did not affect the growth of fungal species. Caffeine and theophylline were demonstrated as effective natural

substances inhibiting their growth. However, as theophylline was subject to rapid degradation (36%), caffeine could be considered as the most suitable antifungal substance. This finding can be utilized well in many wood applications in the building sector.

ACKNOWLEDGMENTS

This research has been supported by the Czech Science Foundation under Project No. 19-02067S.

REFERENCES CITED

- Arora, D. S., and Ohlan, D. (1997). "In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi," *J. Basic Microbiol.* 37, 159-165. DOI: 10.1002/jobm.3620370302
- Ashihara, H., Sano, H., and Crozier, A. (2008). "Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering," *Phytochemistry* 69, 841-856. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.10.029
- Costa, I. L., Machado, C. S., Pletsch, A. L., and Torres, Y. R. (2019). "Simultaneous HPLC-PDA determination of commonly prescribed antidepressants and caffeine in sludge from sewage treatment plants and river sediments in the Itaipu reservoir region, Parana, Brazil," *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 100(9), 1004-1020. DOI: 10.1080/03067319.2019.1646738
- CSN EN 113 (2004). "Wood preservatives - Test method for determining the protective effectiveness against wood destroying basidiomycetes - Determination of the toxic values," Czech Office for Standards, Metrology and Testing, Prague, Czech Republic.
- De Oliveira, M., Atalla, A. A., Farias, F., Breno, E., Cavalheri, P. S., Migliolo, L., Magalhaes, F., and Fernando, J. C. (2019). "Ibuprofen and caffeine removal in vertical flow and free-floating macrophyte constructed wetlands with *Heliconia rostrata* and *Eichornia crassipes*," *Chem. Engin. J.* 373, 458-467. DOI: 10.1016/j.cej.2019.05.064
- Duo-Chuan, L. (2006). "Review of fungal chitinases," *Mycopathologia* 161, 345-360. DOI: 10.1007/s11046-006-0024-y
- Gortari, M., and Hours, R. A. (2008). "Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs, a review," *Mycol. Prog.* 7(4), 221-238. DOI: 10.1007/s11557-008-0571-3
- Hecht, P., Vypel, H., Nussbaumer, P., and Berner, H. (1992). "A combined use of quantum chemical parameters, hydrophobic and geometrical descriptors to establish QSARS of allylamine antimycotics," *Quant. Struct.-Act. Relat.* 11(3), 339-347. DOI: 10.1002/qsar.2660110306
- Hesselberg, T., and Vollrath, F. (2004). "The effects of neurotoxins on web-geometry and web-building behaviour in *Araneus diadematus*," *Physiol. Behav.* 82(2-3), 519-529. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.04.058
- Islam, M. S., Hamdan, S., Hasan, M., Ahmed, A. S., and Rahman, M. R. (2012). "Effect of coupling reactions on the mechanical and biological properties of tropical wood

- polymer composites (WPC),” *Int. Biodeter. Biodegrad.* 72, 108-113. DOI: 10.1016/j.ibiod.2012.05.019
- Kobetičová, K., Šimek, Z., Brezovsky, J., and Hofman, J. (2011). “Toxic effects of nine polycyclic aromatic compounds on *Enchytraeus crypticus* in artificial soil in relation to their properties,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74(6), 1727-1733. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.04.013
- Kobetičová, K., Losonszky, G., Pařízek, O., and Kočí, V. (2015). “Effects of caffeine on plants,” in: *Proceedings of the Conference Influence of Abiotic and Biotic Stresses on Properties of Plants*, Prague, Czech Republic, pp. 166-168.
- Kobetičová, K., Ďurišová, K., Petříková, M., Nábělková, J., and Černý, R. (2019). “Titration methods of methylxanthines,” in: *Conference Proceedings of 7th International Conference on Chemical Technology in Mikulov 2019*, Mikulov, Czech Republic, pp. 310-313.
- Kobetičová, K., Kočí, V., Petříková, M., Šimůnková, K., and Černý, R. (2019). “Growth effectivity of molds in contact with methylxanthines,” in: *Conference Proceedings of 4th Central European Symposium on Building Physics 2019*, Prague, Czech Republic, 02058.
- Kwasniewska-Sip, P., Cofta, G., and Nowak, P. B. (2018). “Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine,” *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 132, 178-184. DOI: 10.1016/j.ibiod.2018.03.007
- Kwasniewska-Sip, P., Bartkowiak, M., Cofta, G., and Nowak, P. B. (2019). “Resistance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) after treatment with caffeine and thermal modification against *Aspergillus niger*,” *BioResources* 14(1), 1890-1898. DOI: 10.15376/biores.14.1.1890-1898
- Lekounougou, S., Ondo, J. P., Jacquot, J., Nevers, G., Gérardin, P., and Gelhaye, E. (2007). “Effects of caffeine on growth of wood-decaying fungi,” in: *International Research Group on Wood Protection*, Stockholm, Sweden, IRG/WP 07-30427.
- Lomba, L., Pilar, R. M., Zuriaga, E., Garcia, C. B., and Giner, B. (2019). “Acute and subacute effects of drugs in embryos of *Danio rerio*. QSAR grouping and modelling,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 172, 232-239. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.081
- Pharmacopoeia (2018a). “Theophyllinum,” (http://www.lekopolis.cz/Kap_6_1_Theophyllinum.htm), Accessed 01 July 2020.
- Pharmacopoeia (2018b). “Theobrominum,” (http://www.lekopolis.cz/Kap_6_1_Theobrominum.htm), Accessed 01 July 2020.
- PubChem (2020a). “Caffeine,” (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>), Accessed 01 July 2020.
- PubChem (2020b). “Theophylline,” (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Theophylline>), Accessed 01 July 2020.
- PubChem (2020c). “National Library of medicine,” Available at (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Theobromine>), Accessed 01 July 2020.
- Rahman, N. A. A., Muharram, S. H., and Abiola, O. (2014). “Antibacterial activity of NESCAFÉ instant coffee beverages and pharyngitis-causing *Streptococcus* species,” *Brunei Darussalam Journal of Health* 5, 70-79.
- Rao, F. V., Andersen, O. A., Vora, K. A., Demartino, J. A., and Van Aalten, D. M. (2005). “Methylxanthine drugs are chitinase inhibitors: Investigation of inhibition and binding modes,” *Chem. Biol.* 12(9), 973-980. DOI: 10.1016/j.chembiol.2005.07.009
- Ratajczak, I., Wozniak, M., Kwasniewska-Sip, P., Szentner, K., Cofta, G., and Mazela, B. (2018). “Chemical characterization of wood treated with a formulation based on

- propolis, caffeine and organosilanes,” *Eur. J. Wood Wood Prod.* 76, 775-781. DOI: 10.1007/s00107-017-1257-9
- Salihovic, M., Huscinovič, Š., Spirtovic-Halilovic, S., Osmanovič, A., Dedič, A., Ašimovič, Z., and Završnik, D. (2014). “DFT study and biological activity of some methylxanthines,” *Bulletin of Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 42, 31-36.
- Singh, T., and Singh, A. P. (2012). “A review on natural products as wood protectant,” *Wood Sci. Technol.* 46, 851-870. DOI: 10.1007/s00226-011-0448-5
- Spirtovic-Halilovic, S., Salihovic, M., Džudžević-Čančar, H., Trifunovic, S., Roca, S., Softic, D., and Završnik, D. (2013). “DFT study and microbiology of some coumarin-based compounds containing a chalcone moiety,” *J. Serb. Chem. Soc.* 79(4), 435-443. DOI: 10.2298/JSC130628077S
- Testolin, R. C., Tischer, V., Lima, A. O., Cotelle, S., Férard, J. F., and Radetski, C. M. (2012). “Aquatic ecotoxicity assessment of a new natural formicide,” *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 19(6), 2186-2194. DOI: 10.1007/s11356-011-0721-z
- Tharanathan, R. N., and Kittur, F. S. (2003). “Chitin-The undisputed biomolecule of great potential,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 43(1), 61-87. DOI: 10.1080/10408690390826455
- Thomas, R. C. (2013). “Calcium content of the endoplasmic reticulum of snail neurons releasable by caffeine,” *Cell Calcium* 53(2), 120-124. DOI: 10.1016/j.ceca.2012.10.007
- Tiepo, E. N., Correa, A. X. R., Resgalla, C., Jr., Cotelle, S., Ferard, J. F., and Radetski, C. M. (2010). “Terrestrial short-term ecotoxicity of a green formicide,” *Ecotoxic. Environ. Saf.* 73(5), 939-943. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2010.01.009

Article submitted: June 28, 2020; Peer review completed: August 29, 2020; Revised version received and accepted: August 31, 2020; Published: September 7, 2020.
DOI: 10.15376/biores.15.4.8110-8120

© 2020. Notwithstanding the ProQuest Terms and Conditions, you may use this content in accordance with the terms available at <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/about-the-journal/editorial-policies/>

4.3 Účinnost kofeinového ošetření pro ochranu dřeva – vliv druhů dřeva a hub

Do budoucna lze očekávat zvýšené požadavky na zdravotní a ekologickou nezávadnost biocidů používaných k ochraně dřeva před bioútokem, a proto je nutné hledat a důkladně testovat nové účinné látky. Bylo prokázáno, že kofein má biocidní účinnost proti dřevokazným houbám, plísním a hmyzu. Cílem výzkumu bylo zjistit, zda účinnost kofeinu jako fungicidu přírodního původu ovlivňuje druh ošetřeného dřeva.

V této práci bylo testováno vyztřelé dřevo smrku ztepilého (*Picea abies*), bělové borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a buku lesního (*Fagus sylvatica*). Vzorky byly ošetřeny technologií dlouhodobého máčení nebo nátěrem (podle EN 152:2012) a následně testovány proti vybraným dřevokazným houbám hnědé hniloby dle normy EN 839:2015, dřevozbarvujícím houbám dle EN 152:2012 a proti růstu plísní podle EN 15457:2015. Průnik roztoku kofeinu do hloubky dřeva byl také hodnocen pomocí kapalinové extrakční chromatografie a také vliv použité úpravy na vybrané fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva.

Výsledky testů ukázaly, že na účinnost kofeinové ochrany měl významný vliv druh použitého dřeva a konkrétní druh dřevodegradujícího činitele. Nejodolnějším dřevem byl ošetřený smrk, nejvíce náchylné k poškození bylo ošetřené dřevo z borovice a buku. Výsledky práce ukázaly, že kofeinová úprava je účinná proti dřevokazným houbám v 2% koncentraci, v některých testovaných případech i v 1%. Lze jej použít jako ekologicky přijatelnou krátkodobou ochranu proti dřevozbarvujícím houbám ve skladech řeziva a je částečně účinný i proti plísním. Rovněž nemá negativní vliv na změny fyzikálních a mechanických vlastností testovaných dřevin

Zpracováno na základě článku s IF 4,329 (2020) ve WoS:

PÁNEK, M., BORŮVKA, V., NÁBĚLKOVÁ, J., ŠIMŮNKOVÁ, K., ZEIDLER, A., NOVÁK, D., ČERNÝ, R., KOBETIČOVÁ, K. Efficacy of Caffeine Treatment for Wood Protection—Influence of Wood and Fungi Species. *Polymers*, 2021, **13**(21), 3758.

Article

Efficacy of Caffeine Treatment for Wood Protection—Influence of Wood and Fungi Species

Miloš Pánek^{1,*}, Vlastimil Borůvka¹, Jana Nábělková², Kristýna Šimůnková¹, Aleš Zeidler¹, David Novák¹, Robert Černý³ and Klára Kobetičová³

¹ Department of Wood Processing and Biomaterials, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00 Prague, Czech Republic; boruvkav@fld.czu.cz (V.B.); simunkovak@fld.czu.cz (K.Š.); zeidler@fld.czu.cz (A.Z.); novakd@fld.czu.cz (D.N.)

² Department of Sanitary and Ecological Engineering, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Thákurova 7, 160 00 Prague, Czech Republic; Jana.Nabelkova@cvut.cz

³ Department of Materials Engineering and Chemistry, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Thákurova 7, 160 00 Prague, Czech Republic; cernyr@fsv.cvut.cz (R.Č.); klara.kobeticova@fsv.cvut.cz (K.K.)

* Correspondence: panekmilos@fld.czu.cz; Tel.: +420-2-2438-3867



Citation: Pánek, M.; Borůvka, V.; Nábělková, J.; Šimůnková, K.; Zeidler, A.; Novák, D.; Černý, R.; Kobetičová, K. Efficacy of Caffeine Treatment for Wood Protection—Influence of Wood and Fungi Species. *Polymers* **2021**, *13*, 3758. <https://doi.org/10.3390/polym13213758>

Academic Editor: Luboš Křišťák

Received: 16 October 2021

Accepted: 26 October 2021

Published: 30 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: In the future, we can expect increased requirements to the health and ecological integrity of biocides used for the protection of wood against bio-attacks, and it is therefore necessary to search for and thoroughly test new active substances. Caffeine has been shown to have biocidal efficacy against wood-destroying fungi, moulds and insects. The aim of the research was to determine whether the effectiveness of caffeine, as a fungicide of natural origin, is affected by a different type of treated wood. Norway spruce mature wood (*Picea abies*), Scots pine sapwood (*Pinus sylvestris*), and European beech wood (*Fagus sylvatica*) were tested in this work. The samples were treated using long-term dipping technology or coating (according to EN 152:2012) and then tested against selected wood-destroying brown rot fungi according to the standard EN 839:2015, wood-staining fungi according to EN 152:2012, and against mould growth according to EN 15457:2015. The penetration of caffeine solution into wood depth was also evaluated using liquid extraction chromatography, as well as the effect of the treatment used on selected physical and mechanical properties of wood. The test results showed that the type of wood used and the specific type of wood-degrading agent had a significant effect on the effectiveness of caffeine protection. The most resistant wood was the treated spruce, whereas the most susceptible to deterioration was the treated white pine and beech wood. The results of the work showed that caffeine treatment is effective against wood-destroying fungi at a concentration of 2%, and at 1% in some of the tested cases. It can be used as an ecologically acceptable short-term protection alternative against wood-staining fungi in lumber warehouses and is also partially effective against moulds. It also does not have negative effects on changes in the physical and mechanical properties of the tested wood species.

Keywords: wood species effect; caffeine treatment; natural biocide; fungi; physical; mechanical properties

1. Introduction

Wood products can be damaged by bio-attack during storage, transport, or assembly, but under suitable humidity conditions also in end products, e.g., wooden structures, wooden buildings, exterior and interior furniture, etc. One of the most effective ways to protect wood is the use of biocides, which prevent damage even if the structural protection is not sufficient [1]. At the same time, however, commercially used biocidal substances have negative effects on the health of workers coming into contact with them, as well as end-users, and they have overall negative environmental impacts. This, especially in industrialized countries, leads to stricter requirements for the least possible toxicity of the preparations used, in an effort to prevent the accumulation of active ingredients

in the human body, animals, soil, and plants [2,3]. One method is to use substances of natural origin that have been shown not to accumulate [4,5], and caffeine is also a very affordable alternative. Its biocidal effect has been explained in several works [6–8]. The insecticidal effect is explained by the inhibition of phosphodiesterase activity leading to an increase in intracellular cyclic adenosine monophosphate [9]. Based on several works, the fungicidal effect of caffeine can be explained by the effect of increasing the proportion of B-glucans and chitin content with an impact on the structure of hyphal cell walls [10,11]. Tests of biocidal activity against wood-destroying fungi were initially performed by the poisoned nutrient soil methods [6], subsequently also verified on treated wood bodies [7,12]. Lightly permeable types of pine and beech wood and the method of vacuum impregnation [7,11,12] were used in most cases, but efficiency on hard-to-permeate spruce wood was also verified using long-term dipping technology [13]. Caffeine was effective against the growth of wood-destroying white and brown rot fungi [6–8,10,12,14] and was also tested on wooden specimens for mould growth [15]. So far, a 2% caffeine solution was tested as an effective concentration, whereas tests using lower concentrations that would reduce the cost of the used protection [1,16] are lacking. The weakness of caffeine as a natural biocide for wood protection is its washability by water [13], in which, according to research works [8,17], it only forms weak bonds. The increase in the biocidal efficiency of caffeine was investigated using subsequent heat treatment [15] and the water washability was reduced using hydrophobic treatments [12,13]. In addition to the long-term protection of built-in products, the use of caffeine as a method of short-term protection of lumber and semi-finished products is also offered, for which the biggest risk is not only the studied moulds [15] and insects [13], but also wood-staining fungi [1]. This topic has not yet been thoroughly researched. An attack by wood-staining fungi can degrade wet lumber during storage and transport under the appropriate thermal conditions within a few days [18]. Lumber degraded in this way significantly loses its price, and it is forbidden to subsequently use it for food packaging and in building structures [1].

The influence of the species of treated wood (beech and spruce) on the efficiency of caffeine has thus far been investigated in only one work [8]; otherwise, only one kind [7,11–13,15] was always used. However, the specific species of treated wood may have an impact on the effectiveness of the protective substance [19–21]. This concerns not only the quality of the impregnation [19,22], as a synergistically positive or negative effect is also possible in combination with the extractives contained in the wood, which cause its natural durability against bio-attack [8,20].

Wood is a material popularly, widely, and advantageously used in several branches of industry [3]. It is essential that any additional treatment, improving some of its original shortcomings, does not have a negative impact on its mechanical and physical properties [1,16]. Effect of caffeine treatment on wood properties changes was investigated only in a general way [13,23]. There is a lack of thorough data for this promising method of protecting wood with a natural biocide in the future.

The aim of the research was to determine whether efficacy of caffeine treatment against selected wood-destroying brown and white rot fungi, wood-staining fungi, and moulds is influenced by wood species: spruce, pine, or beech. A partial goal of the research was to compare the fungicidal effect of 1% and 2% concentration of caffeine solution, and also what effects the treatment has on selected physical and mechanical properties of the tested wood species.

2. Materials and Methods

2.1. Wood and Treatment

Norway spruce (*Picea abies*, L. Karst) mature wood, Scots pine (*Pinus sylvestris*, L.) sapwood, and European beech (*Fagus sylvatica*, L.) wood from Czech Republic was used in this experiment. The oven-dry density of spruce wood was approximately $410 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, pine wood approximately $505 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, and beech wood approximately $660 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Before preparing the test specimens, the timber was air-conditioned to a moisture content (MC)

of $\approx 12\%$. A 1% and 2% aqueous caffeine solution (Sigma Aldrich, Prague, Czech Republic) was used to treat the test specimens, whilst only resistance to fungi was tested with the 1% treatment.

2.2. Mycological Tests

All mycological tests were performed in an accredited laboratory of the Timber Institute (www.vvud.cz (accessed on 5 October 2021)).

2.2.1. Effectiveness of Caffeine Treatment against Rot-Fungi Attack

The test was performed in accordance with standard [24] on test specimens measuring 50 mm \times 25 mm \times 15 mm (L \times T \times R). Before applying the caffeine solution, the specimens were sealed with epoxy resin Epoxex s1300 (Barvy a Laky Hostivař, Prague, Czech Republic). The treatment was then performed on the longitudinal surfaces using dipping technology. The area intake of the solution was continuously checked by weighing and it was in the range of 120 g·m⁻² (± 10 g·m⁻²) for all of the treated specimens. The test organisms were wood-destroying brown rot fungi *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum trabeum* and *Poria (Rhodonia) placenta*. Protective efficacy was determined based on the weight loss of the wood after 16 weeks of exposure in Kole's flasks.

2.2.2. Effectiveness of Caffeine Treatment against Wood-Staining Fungi Attack

The test was performed in accordance with standard [25] on test specimens measuring 110 mm \times 40 mm \times 10 mm (L \times T \times R). Before applying the caffeine solution, the specimens were sealed with epoxy resin Epoxex s1300 (Barvy a Laky Hostivař, Prague, Czech Republic). The caffeine treatment was then performed on three longitudinal surfaces using coating technology (one 110 mm \times 40 mm surface was not treated). The area intake of the solution was continuously checked by weighing and it was in the range of 120 g·m⁻² (± 10 g·m⁻²) for all of the treated specimens. The test organisms were wood-staining fungi *Aureobasidium pullulans* and *Sclerophoma pithyophila*. Protective efficacy was determined after 6 weeks of exposure in cultivation containers based on visual evaluation of the specimen surfaces, where: degree 0 = no visually observable staining; 1st degree = the surface shows only isolated small areas of colouring not more than 1.5 mm wide and 4 mm long, and at no more than five locations; 2nd degree = the surface is consistently coloured up to 1/3, or locally or in strips up to half of the entire surface; 3rd degree = the surface is consistently coloured for more than 1/3, or locally for more than half of the entire surface.

The inside of the specimens after cutting was also evaluated, and the colouring of the inner surface and its extent are also monitored.

2.2.3. Effectiveness of Caffeine Treatment against Mould Attack

The test was performed in accordance with standard [26] on test specimens with dimensions of 45 mm \times 150 mm \times 8 mm (L \times T \times R). The treatment was performed using dipping technology. In this case, only a 2% caffeine solution was used. The volume intake of the solution was continuously checked by weighing and it was in the range of 120 kg·m⁻³ (± 10 kg·m⁻³) for all of the treated specimens. The test organisms were moulds *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. Protective efficacy was determined after 7, 14, 21 and 28 days of fungal attack in Petri dishes based on visual evaluation of the specimens surfaces, where: degree 0 = the specimen surface is not grown over; 1st degree = the surface of the specimen is grown over up to 10% of the area; 2nd degree = the surface of the specimen is grown over between 10–30% of the area; 3rd degree = the surface of the specimen is grown over between 30–50% of the area; 4th degree = the surface of the specimens is grown over 50% of the area.

2.3. Physical and Mechanical Properties

Laths with surface dimensions R \times T = 20 mm \times 20 mm were manipulated from the central planks of beech, spruce and pine wood, with dimensions of 50 mm \times 400 mm \times 2000 mm

($R \times T \times L$). Test specimens (samples) with dimensions of $R \times T \times L = 20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$ and $R \times T \times L = 20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ were subsequently manipulated from each lath, 3 pieces for each dimension. This number is intended to provide longitudinal parallelism for three series of experimental attempts for each monitored property (see below), thus eliminating as much as possible the factor of variability of wood structure for the possibility of the most relevant assessment of the influence of the monitored factor. The 1st sample is intended to be soaked in a 2% caffeine solution, the 2nd sample is to be soaked in distilled water, and the 3rd sample is left as a reference (without any treatment). The test specimens did not contain knots, cracks, or reaction wood, and the deflection of the fibers in the longitudinal plane was $<5^\circ$ [27]. Samples with a length of 30 mm were intended for density determination in oven-dry state and volume swelling, while samples with a length of 300 mm for the determination of bending parameters.

After cutting, the samples were air-conditioned until the equilibrium humidity was stabilized in the environment of the CLIMACELL 707 air-conditioning chamber (BMT Medical Technology Ltd., Brno, Czech Republic) with relative air humidity $65 \pm 5\%$ and temperature $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Subsequently, 2 sets of samples were treated by dipping. After penetration of $120 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ($\pm 10 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) caffeine or water solution, the samples were allowed to dry naturally and were then once again air-conditioned in the environment of the air-conditioning chamber at $MC \approx 12\%$.

The experiments for the determination of selected properties were performed according to valid harmonized standards [28–32] or the usual methodological procedures [33]. Laboratory scales Kern PCB 2500-2 (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany), caliper Kinex 6040-27-150 (KINEX Measuring s.r.o., Prague, Czech Republic) and dryer Binder FD 115 (Binder Inc., Tuttlingen, Germany) were used to determine density and swelling. A Tira 50 kN test machine (Tira GmbH, Schalkau, Germany) was used to determine the bending parameters.

The dynamic modulus of elasticity was determined using the ultrasound method, whilst apparatus FAKOPP Ultrasound Timer UT-06/2013 (Fakopp Enterprise Bt., Ágfalva, Hungary) was used to determine the time of passage of the ultrasound wave through the test sample, followed by a computational relationship (1):

$$MOE_{dyn} = c^2 \cdot \rho, \quad (1)$$

where MOE_{dyn} (Pa) is the dynamic modulus of elasticity, c ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) is the speed of sound propagation calculated from the time of passage of the ultrasound wave over a given length of the sample, and ρ ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) is the wood density.

2.4. LC/MS Analyses

The caffeine extraction procedure was as follows: wood chips with a weight of 0.05–0.1 g were leached in 10 mL of methanol (concentration 20% v/v) overnight (24 h) and diluted in water prior to analysis (purity for HPLC) at a ratio of 1:20 and 1:200.

The caffeine concentrations were analysed on HPLC-MS/MS Agilent 1260 Infinity II (Agilent, Santa Clara, CA, USA) with Triple Quadrupole mass detection. The separation was performed through column Zorbax Eclipse Plus C18 (3 mm \times 50 mm, 1.8 μm) (Agilent, Santa Clara, CA, USA) using methanol and water (acidified by formic acid 0.1:99.9, v/v) as the mobile phase in time sequence: 0–5 min 95% water, 5% methanol with 0.4 mL/min flow, 5–5.50 min 100% methanol with 0.4 mL/min flow, 5.50–5.60 min 100% methanol with 0.5 mL/min flow and 5.6–7.6 min 95% water, 5% methanol with 0.5 mL/min flow. Detection was made using Triple Quadrupole with MRM regime in positive polarity mode.

2.5. Statistical Evaluation

For statistical evaluation, basic descriptive statistics (mean values and standard deviations (SD)) were used, followed by an ANOVA analysis of variance to evaluate the significance of the adjustment factor. The same significance level $\alpha = 0.05$ was used for the analyses. Whisker plots with means and SD, and Tukey's HSD test at 95% significance

level and all other analyses of experimental data were performed in STATISTICA Version 13.4.0.14 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

3. Results

The results of the mycological tests showed a generally significant effectiveness of treatment of beech, spruce, and pine wood against fungi and mould attacks (Figures 1–3). In some cases, the values achieved were relatively variable. However, even under the controlled conditions of standardized tests, a large number of factors affect the growth of living organisms [1,18].

The effect of caffeine treatment on the growth of wood-staining fungi *A. pullulans* and *S. pithyophila* was the lowest for pine sapwood (Figure 1). Only a 2% concentration of the solution applied by coating (see Section 2.2 in Materials and Methods) was partially effective against *S. pithyophila*. The results were similar for the tested spruce and beech woods. The 1% concentration of the protective solution had a slight inhibitory effect only in spruce, whereas the 2% concentration provided a significantly more positive effect in both wood species for wood-stain mould *S. pithyophila* (Figure 1).

For the tested species of fungi, the duration of the test was a significant factor. The largest differences in the results obtained are particularly evident after 21 and 28 days of test duration (Figure 2). The influence of the type of mould and the type of tested wood was significant. The best results in inhibiting the growth of fungi on the wood surface were generally obtained with spruce. For spruce and pine woods, caffeine treatment was more effective against the growth of *P. brevis* and *T. viride*, while *A. niger* appears to be the species of mould least sensitive to the tested 2% solution treatment. For beech wood, the inhibitory effect of caffeine was observed up to a maximum of 3 weeks of test duration, but after 4 weeks there was no significant difference between treated (B-C-2%) and untreated (B-REF) wood (Figure 2).

The effect of caffeine treatment on the growth of the tested brown-rots was once again significantly influenced by the type of wood, and by the type of wood-destroying fungus (Figure 3). It was most effective against wood-destroying fungus *C. puteana*, in which, in terms of spruce and beech wood, as little as 1% of the caffeine solution concentration was highly effective. Conversely, for *P. placenta*, only spruce treated with a 2% concentration of caffeine solution achieved a weight loss of less than 3%, which is required in practice as evidence of sufficient fungicide efficacy in wood [1]. From this perspective, only the treatment of spruce is partially effective against *G. trabeum*. However, spruce wood is most often used in practice for beams and in construction that is often attacked by this type of fungus [1].

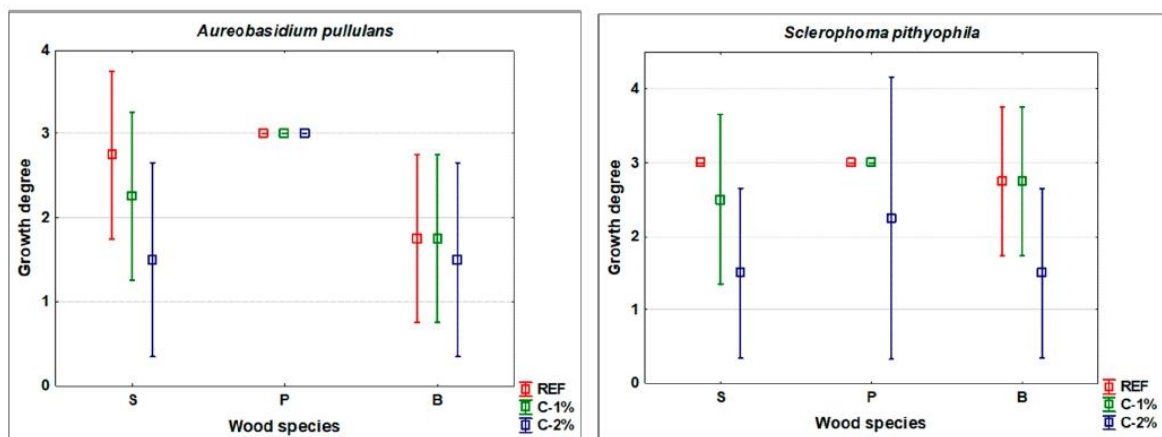


Figure 1. Blue-stain fungi growth.

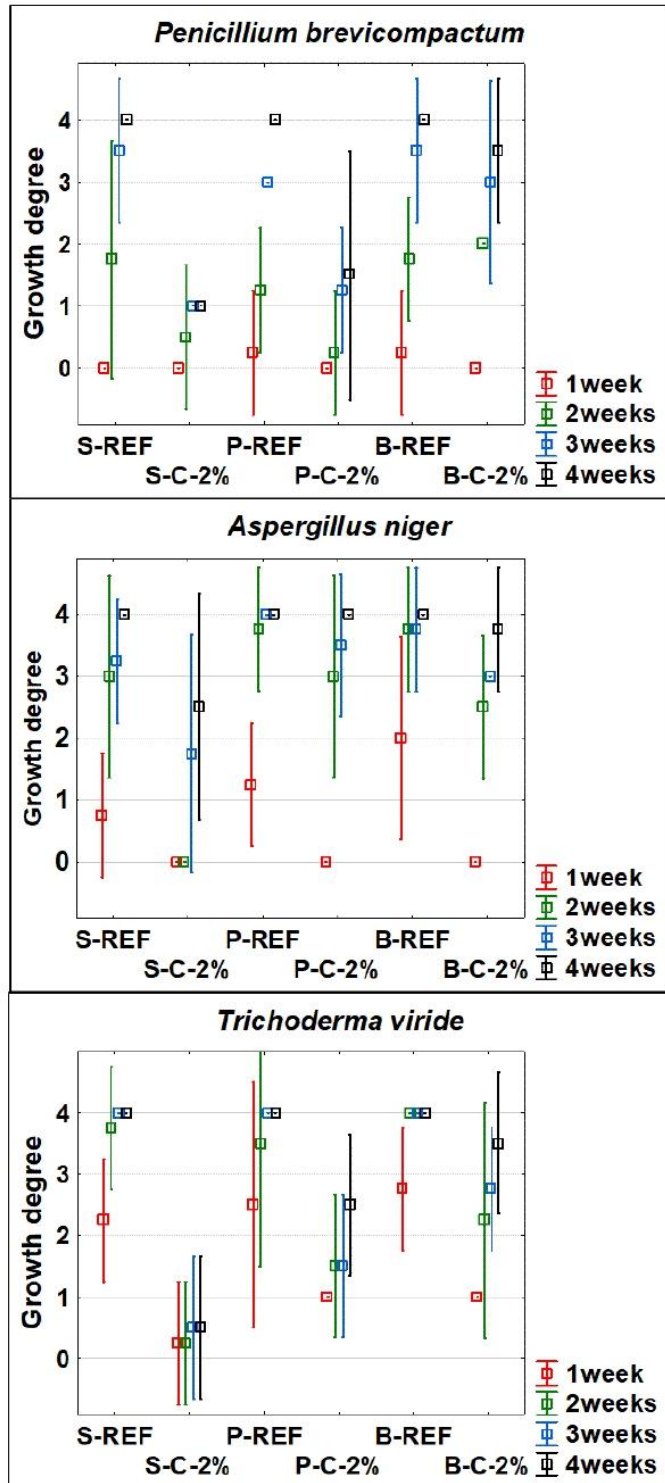


Figure 2. Mould growth.

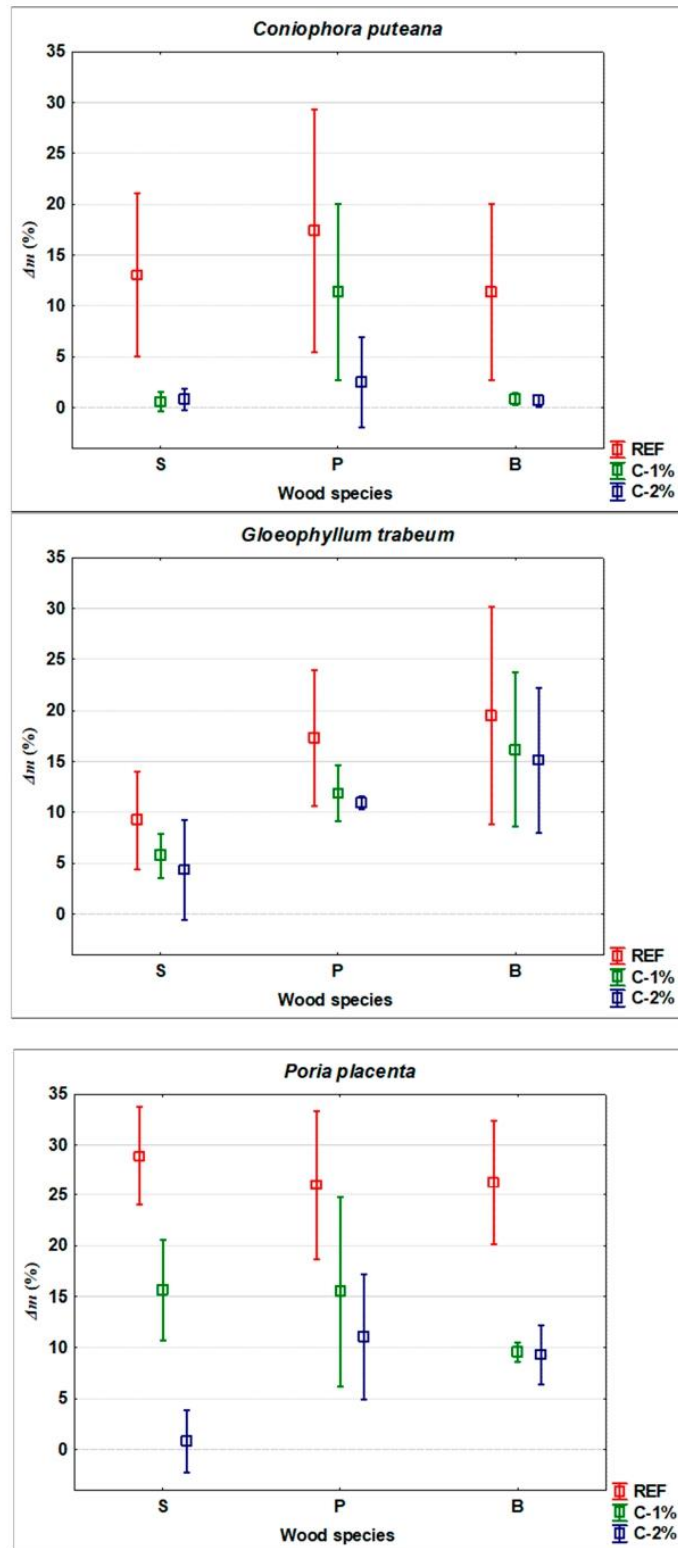


Figure 3. Degradation by wood-destroying fungi.

The evaluation of potential changes in selected physical and mechanical properties of the tested wood species by caffeine treatment is shown in Figure 4 and Tables 1–3. The above results clearly show that the treatment with an aqueous solution of caffeine had either no effect, or only a slight effect, on changes in the properties of the wood. The main evaluation criteria were modulus of elasticity (MOE) and modulus of rupture (MOR) (Figure 4), which react very sensitively to any damage to the wood structure [1]. The obtained values of the tested properties did not deviate from the average values and the variability reported for the given wood species [34,35]. On the other hand, due to the careful selection of the tested sets of test specimens (see Section 2.3 in Materials and Methods), the variability of the tested properties was found to be relatively low. A slight decrease in bending characteristics and volumetric swelling was only found in beech. However, the samples treated with the caffeine solution did not differ significantly from the changes caused by soaking in distilled water, and thereby the effect of caffeine can be ruled out (see Figure 4 and Table 3).

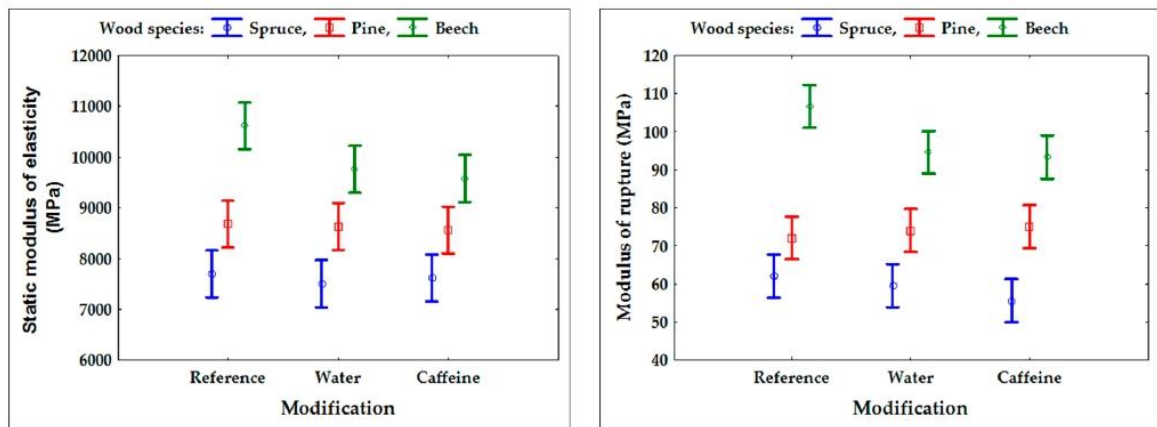


Figure 4. Static modulus of elasticity and modulus of rupture.

Table 1. Basic statistical analyses, mean value (standard deviation) of the selected properties for spruce wood.

Modification	Density (kg·m ⁻³)	Oven-Dry Density (kg·m ⁻³)	Volumetric Swelling (%)	Dynamic MOE (MPa)
Reference	434 (16)	411 (14)	14.9 (0.7)	12,703 (1427)
Water	444 (17)	406 (10)	14.4 (1.0)	13,152 (2060)
Caffeine	449 (18)	412 (13)	14.6 (1.2)	12,864 (1893)

The determinations of caffeine concentrations in dipping treated samples of mature spruce wood, pine sapwood and beech wood yielded interesting findings (Table 4). The penetration of caffeine into the depth of the treated samples that had cross sections sealed with epoxy resin (see Section 2.2 in Materials and Methods) was significantly affected by the type of wood. The smallest differences in the 1st layer (0.0–0.5 mm from the wood surface) and the 2nd or the 3rd layer (0.5–1.0 mm, or 1.0–1.5 mm from the wood surface) of the depth of the layer were observed in pine sapwood, while the highest was in mature spruce and beech wood. These findings are further discussed in part 4. Another finding is that the increase in the concentration of caffeine solution from 1% to 2% applied to wood using dipping technology only led to a slight increase in the concentration of caffeine in the

wood (see Table 4). From the results shown in Figures 1–3, however, it is clear that these differences are crucial in many cases for the effectiveness of this treatment of wood against attack by fungi and moulds.

Table 2. Basic statistical analyses, mean value (standard deviation) of the selected properties for pine wood.

Modification	Density (kg·m ⁻³)	Oven-Dry Density (kg·m ⁻³)	Volumetric Swelling (%)	Dynamic MOE (MPa)
Reference	566 (13)	505 (11)	13.4 (1.6)	14,134 (2137)
Water	573 (24)	500 (12)	13.1 (1.9)	14,154 (1555)
Caffeine	574 (10)	515 (11)	13.0 (2.1)	13,068 (1113)

Table 3. Basic statistical analyses, mean value (standard deviation) of the selected properties for beech wood.

Modification	Density (kg·m ⁻³)	Oven-Dry Density (kg·m ⁻³)	Volumetric Swelling (%)	Dynamic MOE (MPa)
Reference	691 (13)	662 (12)	23.3 (0.8)	16,398 (1010)
Water	689 (10)	657 (9)	22.4 (1.1)	16,481 (1050)
Caffeine	680 (19)	653 (8)	21.5 (0.5)	15,384 (1483)

Table 4. Concentrations of caffeine (mg of caffeine/g of wood) in 3 layers of caffeine treated spruce, pine and beech samples.

Concentration of Caffeine Solution	Depth of Treated Wood Layer	Concentration of Caffeine in Wood (mg of Caffeine/g of Wood)		
		Mature Spruce Wood	Pine Sapwood	Beech Wood
c = 1%	1st layer (0.0–0.5 mm)	9.31 (0.29)	9.13 (0.52)	5.50 (0.18)
	2nd layer (0.5–1.0 mm)	1.39 (0.38)	7.77 (1.05)	1.02 (0.10)
	3rd layer (1.0–1.5 mm)	0.79 (0.24)	5.04 (0.11)	0.80 (0.02)
c = 2%	1st layer (0.0–0.5 mm)	11.49 (0.22)	9.95 (1.97)	8.85 (0.53)
	2nd layer (0.5–1.0 mm)	0.52 (0.18)	6.48 (0.33)	1.30 (0.17)
	3rd layer (1.0–1.5 mm)	0.61 (0.11)	5.15 (0.03)	1.36 (0.35)

4. Discussion

The biocidal effect of caffeine was described and explained in the work of Nathason [9]. The use as a fungicide against wood-destroying fungi was first investigated in the work of Arora and Ohlan [6] and then in the work of Lekounougou et al. [10,11]. In recent years, there has been a growing interest in its use as a potentially enviro- and health-friendly wood preservative against bio-damage. Several works describing the effect on wood against wood-destroying fungi [7,8,12] have been published and the effect on termite attack has been confirmed [13].

Together with structurally similar substances, caffeine is a so-called methylxanthine. In addition to it, biocidal effects have also been investigated for theophylline and theobromine. These substances differ from each other only in the number of nitrogen atoms and their arrangement. Nevertheless, different effects of these substances against different pests

were demonstrated. Caffeine is most effective against the growth of fungi, moulds, and against insect larvae. Unlike theophylline, it is persistent to the extent that it can be used for wood treatment, especially in exposures without direct effects of rainwater [8,36].

Caffeine has an inhibitory effect on fungus and moulds by interacting with the cell wall and is also capable of bioaccumulation in hyphae [37] and fertile fungi [38]. The cell wall of the fungi is responsible for the mechanical strength of cells and the fungus produces various enzymes that are involved in morphogenesis in both its formation and extinction. Such enzymes include chitinases [39]. Chemically, they are glycosyl hydrolases [40]. The groups differ from each other in amino acid sequence, 3D structure, and molecular chitinolytic reaction mechanisms [41]. The growth of fungi and moulds is thus the result of a balance between the effects of the enzymes involved in the synthesis and degradation of chitin [42] and their own self-regulation [41]. In addition, they are produced not only by fungi, but also by other organisms, including plants to protect them against fungal pathogens [42]. It can therefore be assumed that caffeine can be produced by plants precisely as an inhibitor of fungal infections. In addition, the production and inhibition of chitinases can be influenced by many factors, whilst stress regulation due to nutrient deficiency or low temperature or high osmotic pressure is also being considered [41,43].

In our work, we investigated the possible use of caffeine against wood-staining fungi, which can damage freshly felled wood in log or timber warehouses under suitable conditions within a few days [1]. The effect of the used impregnation solution concentration (1% and 2%) in combination with the type of wood (spruce, pine, beech) on mould attack, wood-destroying fungi, and wood-staining fungi was also tested for the first time. In addition, the influence of caffeine treatment on wood properties has yet to be more thoroughly documented [23,44]. This was the first testing of effectiveness against wood-destroying fungi using standard [24]: (closed test specimen faces, dipping applications), which better imitates the operating conditions of impregnation of large wood products compared to the basic test method according to [45], which has already been evaluated in other works [7,12,13].

Based on the results reported in Figures 1–3, it can be stated that the type of treated wood had a relatively significant (in several cases statistically significant at the 95% level of significance) impact on the effectiveness of caffeine treatment against the tested organisms. This is in line with the results of works of more authors, where other types of fungicides were tested, but the type of wood also affected the results of weight loss or mould growth [19–21,46,47]. The best protective effect was achieved with spruce wood (Figures 1–3). This can be explained by its higher natural durability compared to beech and pine sapwood [22]. However, Table 4, showing the caffeine concentrations in the individual layers of treated wood, offers another possible explanation. Wood-destroying and wood-staining fungi most easily attacks wood by first growing through open cell elements [1] and only then do they begin to degrade the cell wall [18]. For mature spruce wood, the tracheids are completely enclosed by pits [48] and caffeine protection on the surface of the wood and cell lumens (Table 4) provides barrier protection against hyphae penetration to greater depths. A similar concentration gradient is documented for beech wood (Table 4), which is impregnable mainly in the longitudinal direction due to open vessels [35]. However, in our test, the impregnation was mainly performed in the transverse direction, as the transverse surfaces were closed; thus, the penetration of the caffeine solution into the depth was significantly reduced (see Table 4). Since the cellular elements of beech (but also pine) are not as tightly closed as in spruce [34,35], fungal hyphae could more easily penetrate to a greater depth of the test specimens; thus, the degradations were more pronounced (Figures 1–3). A better protective effect on spruce compared to beech was also achieved in the study by Kobetičová et al. [8]. This study [8] demonstrated that caffeine binds most to coumaryl alcohol (CuA) and to conipheryl alcohol (CoA), and that it interacts least with sinapyl alcohol (SA). Beech contains these components at a ratio of CoA:SA:CuA = 56:40:4 and spruce at a ratio of 94:1:5 [49] (Fengel et al., 1984). A higher ratio of SA in beech wood

can lead to a lower binding of caffeine to wood; thus, its fungicidal effect can be reduced also by this reason.

The effect of the specific type of test organism used on wood damage was also confirmed (Figures 1–3). This is again in line with other works [19,21] and confirmed for caffeine treatment [7,8], and in our work for an additional 3 different types of wood. The 2% concentration of caffeine treatment was most effective against the wood-destroying fungus *C. puteana*, and partially inhibiting the growth of wood-staining fungi *A. pullulans* and *S. pithiophylla* regardless of the type of wood treated. In addition, for spruce wood, it significantly inhibited the attack by wood-destroying fungi *G. trabeum* and *P. placenta*, and the growth of fungi *P. brevicompactum* and *T. viride*. The effect on pine sapwood and beech wood was not sufficient in a number of cases, which is in partial conflict with the works of Broda et al. [12] and Kwaśniewska-Sip et al. [7]. This is due to the use of a different method of wood treatment in our work, which may be more acceptable and cheaper for operations without the possibility of using pressure impregnation. In terms of protecting spruce wood, this procedure seems to be sufficient, which was confirmed by the work of Šimůnková et al. [13]. A treatment with 1% solution was also sufficiently effective against the attack by *C. puteana* and *G. trabeum* in spruce wood (Figure 3). However, in terms of beech and pine wood, treatment with 2% caffeine solution is only effective in some cases; it is therefore necessary to take into account the need for pressure impregnation in accordance with works Broda et al. [12] and Kwaśniewska-Sip et al. [7], with the recommendation to also confirm the results of the cited work for large-scale products used in practice.

As expected, the selected mechanical and physical properties of treated wood species were not significantly affected by treatment with an aqueous caffeine solution (Figure 4, Tables 1–3). In some cases, there was a slight (but not statistically significant) decrease in the values of bending characteristics, among which the bending strength primarily reacts sensitively to any damage to the wood structure [1,50,51]. Together with a slight decrease in volumetric swelling, this can be attributed to soaking in an aqueous caffeine or water solution (see Tables 1–3 and Figure 4), which washes out water-soluble extractives from the wood [52], and the formation of microscopic cracks can also occur during subsequent drying [53]. In our work, both of these effects only slightly disturbed the compactness of the tested specimens, and the changes in the tested properties were statistically insignificant in almost all cases. It is possible to exclude the concurrent effect of the caffeine solution on the observed changes, as the effects of pure water had the same effect (Tables 1–3 and Figure 4). For beech wood, the slightly more pronounced effect of soaking in aqueous caffeine and in water compared to coniferous species is associated with the significantly different wood structure and transport processes in the beech wood [23,54,55].

5. Conclusions

Caffeine appears to be an ecological, safe, and affordable alternative to conventional biocides. In our work we tested the effect of 1% and 2% concentration of aqueous caffeine solution applied via dipping on spruce, white pine, and beech woods against brown rot wood-destroying fungi *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum trabeum*, and *Poria (Rhodonia) placenta*. The coating application was tested against wood-staining fungi *Aureobasidium pullulans* and *Sclerophoma pithyophila*. A 2% solution was tested by dipping against the growth of moulds *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*.

The test results showed that the type of wood used and the specific type of wood degrading agent had a significant effect on the effectiveness of caffeine protection. The treated spruce wood was most resistant to damage by the tested organisms, while the most susceptible to deterioration was the treated white pine and beech wood. The results of the work showed that the caffeine treatment is effective against wood-destroying fungi at a concentration of 2%, and at 1% only in some of the tested cases. It can be used as an ecologically acceptable short-term protection alternative against wood-staining fungi in lumber warehouses, and the 2% concentration is also partly effective against the growth of mould on wood. It also does not have negative effects on changes in the physical and

mechanical properties of the tested wood species. Treatment of wood with caffeine is also suitable for practical purposes. In particular, it can preventively protect wood against bio-attack, if the final product is exposed to accidental moisture or condensed water.

Author Contributions: The work presented in this paper is a collaborative development by all the authors. Conceptualization, M.P. and K.K.; methodology, M.P., V.B., J.N. and K.K.; formal analysis, K.K.; investigation, K.Š., M.P., D.N., A.Z. and J.N.; resources, K.Š., K.K., M.P. and V.B.; data curation, V.B., M.P. and J.N.; writing—original draft preparation, M.P., K.K., V.B. and J.N.; writing—review and editing, V.B., K.K. and R.Č.; visualization, M.P. and K.Š.; supervision, K.K.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Grant Agency of the Czech Republic, grant number 19-02067S.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Reinprecht, L. *Wood Deterioration, Protection and Maintenance*, 1st ed.; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 2016; p. 376.
- Barbero-López, A.; Akkanen, J.; Lappalainen, R.; Peräniemi, S.; Haapala, A. Bio-based wood preservatives: Their efficiency, leaching and ecotoxicity compared to a commercial wood preservative. *Sci. Total Environ.* **2021**, *753*, 142013. [[CrossRef](#)]
- Sandberg, D.; Kutnar, A.; Karlsson, O.; Jones, D. *Wood Modification Technologies. Principles, Sustainability, and the Need for Innovation*, 1st ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2021; p. 431.
- Singh, T.; Singh, A.P. A review on natural products as wood protectant. *Wood Sci. Technol.* **2012**, *46*, 851–870. [[CrossRef](#)]
- Broda, M. Natural compounds for wood protection against fungi—A review. *Molecules* **2020**, *25*, 3538. [[CrossRef](#)]
- Arora, D.S.; Ohlan, D. In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *J. Basic Microbiol.* **1997**, *37*, 159–165. [[CrossRef](#)]
- Kwaśniewska-Sip, P.; Cofta, G.; Nowak, P.B. Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2018**, *132*, 178–184. [[CrossRef](#)]
- Kobetičová, K.; Böhm, M.; Nábělková, J.; Černý, R. Influence of selected storage temperatures on wood properties and its biological resistance after the use of methylxanthines. *BioResources* **2021**, *16*, 6231–6243. [[CrossRef](#)]
- Nathason, J.A. Caffeine and related methylxanthines: Possible naturally occurring pesticides. *Science* **1984**, *226*, 184–187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lekounougou, S.; Ondo, J.P.; Jacquot, J.P.; Nevers, G.; Gérardin, P.; Gelhaye, E. *Effects of Caffeine on Growth of Wood-Decaying Fungi*; International Research Group on Wood Protection: Stockholm, Sweden, 2007.
- Lekounougou, S.; Jacquot, J.P.; Gérardin, P.; Gelhaye, E. Effects of propiconazole on extra-cellular enzymes involved in nutrient mobilization during *Trametes versicolor* wood colonization. *Wood Sci. Technol.* **2008**, *42*, 169–177. [[CrossRef](#)]
- Broda, M.; Mazela, B.; Frankowski, M. Durability of wood treated with AATMOS and caffeine—towards the long-term carbon storage. *Maderas. Cienc. Tecnol.* **2018**, *20*, 455–468. [[CrossRef](#)]
- Šimůnková, K.; Reinprecht, L.; Nábělková, J.; Hýsek, Š.; Kindl, J.; Borůvka, V.; Lišková, T.; Šobotník, J.; Pánek, M. Caffeine—Perspective natural biocide for wood protection against decaying fungi and termites. *J. Clean. Prod.* **2021**, *304*, 127110. [[CrossRef](#)]
- Kobetičová, K.; Nábělková, J.; Ďurišová, K.; Šimůnková, K.; Černý, R. Antifungal activity of methylxanthines. *BioResources* **2020**, *15*, 8110–8120. [[CrossRef](#)]
- Kwaśniewska-Sip, P.; Bartkowiak, M.; Cofta, G.; Nowak, P.B. Resistance of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) after treatment with caffeine and thermal modification against *Aspergillus niger*. *BioResources* **2019**, *14*, 1890–1898. [[CrossRef](#)]
- Sandberg, D. Additives in Wood Products—Today and Future Development. In *Environmental Impacts of Traditional and Innovative Forest-Based Bioproducts, Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*; Springer Science + Business Media: Singapore, 2016; pp. 105–172. [[CrossRef](#)]
- Kwaśniewska-Sip, P.; Woźniak, M.; Jankowski, W.; Ratajczak, I.; Cofta, G. Chemical changes of wood treated with caffeine. *Materials* **2021**, *14*, 497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Schmidt, O.; Nilsson, T. *Wood and Tree Fungi—Biology, Damage, Protection, and Use*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2006; p. 334. [[CrossRef](#)]
- Humar, M.; Lesar, B. Efficacy of linseed- and tung-oil-treated wood against wood-decay fungi and water uptake. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2013**, *85*, 223–227. [[CrossRef](#)]
- Pardo, T.; Alfaro, J. White-rot fungal resistance of Teak and melina wood treated with acetic anhydride. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2014**, *88*, 44–47. [[CrossRef](#)]

21. Bak, M.; Németh, R. Effect of different nanoparticle treatments on the decay resistance of wood. *BioResources* **2018**, *13*, 7886–7899. [CrossRef]
22. EN 350. In *Durability of Wood and Wood-Based Products—Testing and Classification of the Durability to Biological Agents of Wood and Wood-Based Materials*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2016.
23. Borůvka, V.; Zeidler, A.; Schönfelder, O.; Šimůnková, K. Selected physical and mechanical properties of beech wood treated by caffeine. In Proceedings of the 9th Hardwood Conference, Sopron, Hungary, 21–22 October 2020; pp. 50–56.
24. EN 839. In *Wood Preservatives—Determination of the Protective Effectiveness against Wood Destroying Basidiomycetes—Application by Surface Treatment*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2015.
25. EN 152. In *Determination of the Protective Effectiveness of a Preservative Treatment against Blue Stain in Wood in Service. Laboratory Method*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2012.
26. EN 15457. In *Paints and Varnishes—Laboratory Method for Testing the Efficacy of Film Preservatives in a Coating against Fungi*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2015.
27. ČSN 49 0101. In *Dřevo. Všeobecné Požadavky na Fyzikálne a Mechanické Skúšky (Wood. General Requirements for Physical and Mechanical Testing)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1980.
28. ČSN 49 0108. In *Dřevo. Zisťovanie Hustoty (Wood. Determination of the Density)*; Czech Standards Institute: Prague, Czech Republic, 1993.
29. ČSN 49 0115. In *Dřevo. Zisťovanie Medze Pevnosti v Statickom Ohybe (Wood. Determination of Ultimate Strength in Flexure Tests)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1979.
30. ČSN 49 0116. In *Dřevo. Metóda Zisťovania Modulu Pružnosti Pri Statickom Ohybe (Wood. Determination of the Modulus of Elasticity in Static Bending)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1982.
31. ČSN 49 0126. In *Skúšky Vlastností Rastlého Dřeva. Metóda Zisťovania Napúčavosti (Testing of Growth Wood Properties. Method for Determination of Swelling)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1989.
32. ČSN EN 310. In *Desky ze Dřeva. Stanovení Modulu Pružnosti v Ohybu a Pevnosti v Ohybu (Wood based Panels. Determination of Modulus of Elasticity in Bending and of Bending Strength)*; Czech Standards Institute: Prague, Czech Republic, 1996.
33. FAKOPP. Ultrasonic Timer User's Guide. Available online: <http://fakopp.com/docs/products/ultrasonic/UltrasonicGuide.pdf> (accessed on 9 September 2021).
34. Požgaj, A.; Chovanec, D.; Kurjatko, S.; Babiak, M. *Štruktúra a Vlastnosti Dřeva. (Structure and Properties of Wood)*, 1st ed.; Příroda a.s.: Bratislava, Slovakia, 1993; p. 485.
35. Wagenführ, R. *Dřevo—Obrazový Lexikon*; GRADA Publishing: Praha, Czech Republic, 2002; p. 348, ISBN 80-247-0346-7.
36. Pánek, M.; Šimůnková, K.; Novák, D.; Dvořák, O.; Schönfelder, O.; Šedivka, P.; Kobetičová, K. Caffeine and TiO₂ nanoparticles treatment of spruce and beech wood for increasing transparent coating resistance against UV-radiation and mould attacks. *Coatings* **2020**, *10*, 1141. [CrossRef]
37. Kobetičová, K.; Nábělková, J.; Černý, R. Uptake of caffeine by *Serpula lacrymans*. *AIP Conf. Proc.* **2020**, *2275*, 020011. [CrossRef]
38. Carrasco-Cabrera, C.P.; Bell, T.L.; Kertesz, M.A. Caffeine metabolism during cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with spent coffee grounds. *Appl. Microbiol. Biot.* **2019**, *103*, 5831–5841. [CrossRef]
39. Adams, D.J. Fungal cell wall chitinases and glucanases. *Microbiology* **2004**, *150*, 2029–2035. [CrossRef] [PubMed]
40. Gooday, G.W. Aggressive and defensive roles for chitinases. In *Chitin and Chitinases*; Jollès, P., Muzzarelli, R.A.A., Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel, Switzerland, 1999; pp. 157–165.
41. Duo-Chuan, L. Review of fungal chitinases. *Mycopathologia* **2006**, *161*, 345–360. [CrossRef] [PubMed]
42. Sahai, A.S.; Manocha, M.S. Chitinases of fungi and plants: Their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiol. Rev.* **1993**, *11*, 317–338. [CrossRef]
43. Gortari, M.; Hours, R.A. Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs: A review. *Mycol. Progress.* **2008**, *7*, 221–238. [CrossRef]
44. Šimůnková, K.; Zeidler, A.; Schönfelder, O.; Pánek, M. Impact of modification by caffeine on some surface properties of beech wood. In Proceedings of the 9th Hardwood Conference, Sopron, Hungary, 21–22 October 2020; pp. 248–251.
45. EN 113. In *Wood Preservatives—Test Method for Determining the Protective Effectiveness against Wood Destroying Basidiomycetes. Determination of the Toxic Values*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 1996.
46. Giordano, L.; Gonthier, P.; Negro, F.; Zanuttini, R.; Cremonini, C. Effectiveness of new molecules against widespread mould for safe hardwood and softwood packaging. *Eur. Wood Prod. J.* **2021**, *79*, 227–236. [CrossRef]
47. Salem, M.Z.M.; Zidan, Y.E.; Hadidi, N.M.N.; Mansour, M.M.A. Evaluation of usage three natural extracts applied to three commercial wood species against five common molds. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2016**, *110*, 206–226. [CrossRef]
48. Lehringer, C.H.; Richter, K.; Schwarze, F.W.M.R.; Miltz, H. A review on promising approaches for liquid permeability improvement in softwoods. *Wood Fiber Sci.* **2009**, *41*, 373–385.
49. Fengel, D.; Wegener, G. *Wood—Chemistry, Ultrastructure, Reactions*; Walter de Gruyter: Berlin, Germany; New York, NY, USA, 1984; p. 613.
50. Tsoumis, G.T. *Science and Technology of Wood: Structure, Properties, Utilization*, 2nd ed.; Van Nostrand Reinhold: New York, NY, USA, 1991; p. 494, ISBN 0-442-23985-8.
51. Bodig, J.; Jayne, B.A. *Mechanics of Wood and Wood Composites*, 1st ed.; Van Nostrand Reinhold: New York, NY, USA, 1982; p. 712, ISBN 0442008228.

52. Hill, C.A.S. *Wood Modification—Chemical, Thermal and Other Processes*; John Wiley and Sons Ltd.: Chichester, UK, 2006; p. 239, ISBN 978-0-470-02172-9.
53. Hon, D.N.S.; Shiraishi, N. *Wood and Cellulosic Chemistry*, 2nd ed.; Revised, and Expanded; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2000; p. 928, ISBN 0-8247-0024-4.
54. Siau, J.F. *Transport. Processes in Wood*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1984; p. 248, ISBN 978-3-642-69215-4.
55. Skaar, C. *Wood-Water Relations*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1988; p. 283, ISBN 978-3-642-73685-8.

4.4 Úprava smrkového a bukového dřeva kofeinem a nanočásticemi TiO₂ pro zvýšení odolnosti transparentního nátěru proti UV záření a plísním

Byl testován efekt prvotní úpravy bukového a smrkového dřeva roztokem kofeinu a komerčního přípravku FN-NANO® FN-1 s vodní disperzí nanočástic TiO₂ pro zvýšení životnosti transparentních olejových a akrylátových nátěrů během 6 týdnů umělého zrychlené zvětrávání. Byly sledovány změny barvy, lesku a kontaktního úhlu vody. Degradace nátěrového filmu byla také hodnocena vizuálně a mikroskopicky. Následně byla rovněž testována odolnost nátěrů proti růstu plísní.

Na základě výsledků je možné doporučit prvotní ošetření smrkového a bukového dřeva 2% roztokem kofeinu nebo 15% roztokem disperze FN-NANO® pro zvýšení celkové životnosti transparentního akrylátového nátěru v exteriérových aplikacích. U olejového nátěru nebyl pozorován žádný pozitivní účinek aplikovaných ošetření. Nižší koncentrace FN-NANO® navíc neměly dostatečný efekt a nepotvrdil se ani synergický efekt použití FN-NANO® ve směsi s 1% roztokem kofeinu.

Zpracováno na základě článku s IF 2,881 (2019) ve WoS:

PÁNEK, M., ŠIMŮNKOVÁ, K., NOVÁK, D., DVOŘÁK, O., SCHÖNFELDER, O., ŠEDIVKA, P., & KOBETIČOVÁ, K. (2020). Caffeine and TiO₂ nanoparticles treatment of spruce and beech wood for increasing transparent coating resistance against UV-radiation and mould attacks. *Coatings*, **10**(12), 1141.

Article

Caffeine and TiO₂ Nanoparticles Treatment of Spruce and Beech Wood for Increasing Transparent Coating Resistance against UV-Radiation and Mould Attacks

Miloš Pánek ^{1,*}, Kristýna Šimůnková ¹, David Novák ¹, Ondřej Dvořák ¹, Ondřej Schönfelder ¹, Přemysl Šedivka ¹ and Klára Kobetičová ² 

¹ Department of Wood Processing and Biomaterials, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00 Prague, Czech Republic; simunkovak@fld.czu.cz (K.Š.); novakd@fld.czu.cz (D.N.); dvorak18@fld.czu.cz (O.D.); schonfelder@fld.czu.cz (O.S.); sedivka@fld.czu.cz (P.Š.)

² Department of Materials Engineering and Chemistry, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, 166 29 Prague, Czech Republic; klara.kobeticova@fsv.cvut.cz

* Correspondence: panekmilos@fld.czu.cz; Tel.: +420-224-383-867

Received: 10 November 2020; Accepted: 21 November 2020; Published: 24 November 2020



Abstract: The effect of the initial modification of beech and spruce wood using a solution of caffeine and of a commercial product FN-NANO[®] FN-1 containing a water dispersion of TiO₂ nanoparticles for increasing the service life of a transparent oil and acrylate coatings during 6 weeks of artificial accelerated weathering was tested. Changes in colour, gloss, and the contact angle of water were monitored. Degradation of the coating film was also evaluated visually and microscopically. The resistance of the coatings to mould growth was also subsequently tested. Based on the results, it is possible to recommend the initial treatment of spruce and beech wood with a 2% caffeine solution or 15% solution of FN-NANO[®] dispersion to increase the overall life of a transparent acrylic coating in exterior applications. No positive effect of the applied treatments was observed with the oil coating. In addition, lower concentrations of FN-NANO[®] did not have a sufficient effect, and the synergistic effect of using FN-NANO[®] in a mixture with a 1% caffeine solution was also not confirmed.

Keywords: wood; caffeine; TiO₂ nanoparticles; transparent coatings; UV-resistance; mould attack

1. Introduction

Wood is a material of natural origin which is subject to a relatively rapid loss of its original appearance in exterior applications [1]. This is caused both by abiotic influences [2] and biotic infestation, in particular by moulds and wood-staining fungi [3,4]. The original appearance of wood in an exterior location can be further preserved using coating systems [5]. Transparent coatings can preserve not only the original design but also partly the colour of the base wood; however, their long-term stability is reduced compared to pigmented coatings by deeper and more intense penetration of sunlight into the coating film and base wood [6,7]. Another factor causing faster defoliation of coatings is the growth of fungal hyphae on their surface and in the zone between the coating and the wood surface [8,9]. In practice, penetrating base coatings containing fungicides and photo-stabilising components are most often used to suppress fungal growth, increase the bio-resistance of non-durable wood species, and increase photostability [5,10]. Ultraviolet (UV) stabilisers, hindered amine light stabilisers (HALS), and nanoparticles [1–13] are most often used as additives, and substances based on triazoles, carbamates, and others are most often used as fungicides [14,15].

An interesting possibility for increasing bio-resistance in parallel with photo-stabilisation of wood is the use of TiO₂ nanoparticles in anatase form [2,13,16–18]. The use of various substances of natural

origin extractable from renewable sources is a more ecologically acceptable form of wood protection against bio-attack [19]. One of the substances with a proven biocidal effect is caffeine [20–22], but it is also disadvantageous in terms of its washability from wood [23]. However, this disadvantage would be eliminated through use of the top barrier layer of the coating system, which protects the base caffeine-impregnated wood. Nevertheless, it is necessary to determine whether the initial pre-treatment with TiO₂ nanoparticles and caffeine adversely affects the overall service life of the applied top coating, as described in some works [24,25]. Woods of the Norway spruce (*Picea abies* L. Karst) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) were selected for research in this work. Spruce wood is widely used in exterior structures without a shelter—class 3 by EN 335 [26]. This is a type of wood with lower resistance to bio-attack [27] and its additional protection against bio-attack is often required. Transparent exterior coatings on this type of wood do not have optimal durability [28,29]. Beech wood is rarely used outdoors due to its low resistance to bio-attacks [27]. Its deep impregnation is necessary, and creosote oils are used, for example, for its use on railway sleepers [5]. Additionally, due to climate change, it is possible to anticipate an increase in its share in the total volume of wood processed—here, in Central Europe in particular [3,30,31]. The use of a suitable coating system and fungicidal components represents one of the simplest and cheapest variants of its possible use in class 3 by EN 335 [26]—outdoors without a shelter and without contact with the ground and water.

The aim of the experiment was to determine how the overall service life of the acrylate and oil coating system is affected by the initial surface modification of the underlying spruce and beech wood using caffeine solutions, dispersion of TiO₂ nanoparticles, and their combinations. The method of artificial accelerated weathering in a UV-chamber and a subsequent test of mould growth on both ageless and weathered surfaces of treated wood were used for testing.

2. Material and Methods

2.1. Wood Samples

Norway spruce (*Picea abies*, L. Karst) wood with an average density of 412 kg·m⁻³ and beech wood (*Fagus sylvatica*, L.) with an average density of 710 kg·m⁻³ were used for the experiments. Test specimens measuring 20 mm × 40 mm × 150 mm with a milled test area of 40 mm × 150 mm were prepared. Prior to treatment, the samples were conditioned in the laboratory at $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and in air humidity of $\phi = 65\%$ to an equilibrium humidity of 12%, and they were subsequently modified for further testing.

2.2. Treatments of Samples

In the first step, the test specimens were soaked in more concentrations of impregnation solutions containing an aqueous dispersion of commercial product FN-NANO[®] (FN-1) (FN-NANO[®] s.r.o., Prague, Czech Republic). FN-NANO[®] dispersion containing about 7.5% TiO₂ nanoparticles in anatase form with the addition of 2.4% ZnSO₄ fulfilling the function of binder. Other sets were impregnated in 2% caffeine solution (Sigma-Aldrich, Prague, Czech Republic) and sets with different concentrations of FN-NANO[®] in solution combined with 1% of caffeine were also prepared (see Table 1). The intake of the solution and the soaking time were adjusted and controlled by continuous weighing of the samples so that the intake of impregnating substance into the wood was about $120 \pm 20\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ for both types of wood (beech is significantly more permeable compared to spruce). Subsequently, the samples were dried again in the laboratory at $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and in air humidity of $\phi = 65\%$ to an equilibrium humidity of 12%. After drying, in the second step, top coatings were applied by brush to the samples. Acrylic (AC) transparent exterior glaze (Impranal profi with UV-filter, Stachema a.s., Kolín, Czech Republic) and transparent coating based on vegetable oils (OL) for exterior OSMO UV 420 (Osma, Münster, Germany). Both were applied in two layers by the producers' recommendations with a deposit of approximately $100\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$. A total of 4 test specimens were prepared for each type of treatment (see Table 1) and testing. After drying the coating systems, tests of artificial accelerated weathering were performed.

Table 1. Tested sets of specimens and their specification.

Types of Samples	Solution of FN-NANO® Dispersion (Concentration)	Caffeine Solution (Concentration)	Acrylic Coating (AC)	Oil-Based Coating (OL)
R-R	–	–	–	–
R-A	–	–	2 layers	–
1-A	10%	–	2 layers	–
2-A	15%	–	2 layers	–
3-A	10%	1%	2 layers	–
4-A	15%	1%	2 layers	–
5-A	–	2%	2 layers	–
R-O	–	–	–	2 layers
1-O	10%	–	–	2 layers
2-O	15%	–	–	2 layers
3-O	10%	1%	–	2 layers
4-O	15%	1%	–	2 layers
5-O	–	2%	–	2 layers

Note: The spruce samples were marked (S) and the beech samples (B). Solutions of FN-NANO® dispersion with concentrations 3.5% and 5%, as well as their combinations with a total 1% concentration of caffeine were also prepared, but the achieved results after artificial weathering were unsatisfactory, and they have therefore not been further evaluated in this article.

2.3. Artificial Accelerated Weathering

Artificial accelerated weathering (AW) was performed on the basis of EN 927-6 [32] in a UV chamber (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) (radiation parameters 1.10 Wm^{-2} ; T on black panel = $65 \text{ }^\circ\text{C}$ were modified) as standard with 2.5 h radiation phases and 0.5 h spraying with distilled water in the dark, and air conditioning at $45 \text{ }^\circ\text{C}$ once a week for 24 h. In addition, once a week, 3 temperature cycles (1 h at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ and one hour at $-25 \text{ }^\circ\text{C}$) were inserted in the Discovery My DM340 air conditioning chamber (ACS, Massa Martana, Italy). The tests lasted for 6 weeks and the selected properties of the tested samples were evaluated at the beginning and after the 3rd and 6th week of AW.

2.4. Tested Properties—Colour, Gloss, Surface Wetting, and Visual Evaluation

The evaluated properties were colour changes measured by a spectrophotometer (CM-600d, Konica Minolta, Osaka, Japan) with an observation angle of 10° , $d/8$ geometry, D65 light source, and the SCI setting was used. The colour changes of the parameters L^* (brightness), a^* (+red; –green), b^* (+yellow, –blue), and the total colour change ΔE^* according to the known relationship $\Delta E^* = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{\frac{1}{2}}$ were evaluated [33]. Twelve measurements were made for each group of test samples and AW time.

The gloss was measured with an MG268-F2 glossmeter (KSJ, Quanzhou, China) at an angle of 60° according to EN ISO 2813 [34]. Twelve measurements were performed for each group of tested samples and AW time.

Surface wetting was evaluated using Goniometer DSA 30E (Krüss, Hamburg, Germany) and Krüss software (Krüss, Hamburg, Germany). The sessile drop method was used. The dosing volume of the distilled water drop was $5 \mu\text{L}$ and measurement time of the water contact angle on the surface after deposition was 5 s. A total of 20 measurements for each type of treatment and AW time were performed.

Visual evaluation was performed using $10\times$ folder magnification and scans of samples (using a desktop scanner at a resolution of 300 dots per inch (DPI) (Canon 2520 MFP, Canon, Tokyo, Japan) before and during AW. Microscopic analyses of surfaces used a confocal laser scanning microscope (Lext Ols 4100, Olympus, Tokyo, Japan) with 108-fold magnification.

2.5. Mould Resistance Test

The test samples without weathering and after 6 weeks of artificial accelerated weathering were tested for the resistance of the surfaces to moulds. Petri dishes with Czapek–Dox agar were left in the open for 24 h to free up mould spores. This method provides more variable results compared to the laboratory methods using pure mould cultures, but it corresponds better to the real conditions of the

exposed wood. The samples were then sealed and left at 30 °C and 90% relative humidity. After checking the growth of mould in the dish, moist test specimens measuring 15 mm × 40 mm × 10 mm were placed in the dishes with growing moulds, where their upper side measuring 40 mm × 15 mm was manipulated from the surfaces of the exposed test specimens, and not exposed to artificial accelerated weathering. The samples were placed on a low plastic pad to prevent the agar from seeping into the wood. Two test specimens were placed in each dish so that one dish did not contain samples from the same set of the tested types of treatments. Mould growth was evaluated after 7, 14, 21, and 28 days of the mould test based on the ČSN 490604 [35] standard, where degree 0 corresponds to samples without growth, 0%–10% is evaluated by degree 1, 10%–30% by degree 2, 30%–50% by degree 3, and above 50% of the stand at degree 4.

2.6. Statistical Evaluation

The results of the obtained measurements were evaluated using Statistica software (version 13.4) (StatSoft, Palo Alto, CA, USA) and using mean values, standard deviations (SD), and whisker plots using means and $2 \pm SD$.

3. Results and Discussion

3.1. Visual and Microscopic Evaluation

Based on visual evaluation supplemented by a microscopic analysis of the surfaces of the tested samples after artificial accelerated aging, positive effect of certain types of pre-treatments improving the durability of the acrylate coating (Figure 1) were evident. Compared to untreated wood and two layers of acrylic coating (Figure 1b), these were mainly 2% caffeine solution treatments (Figure 1c), the surface treated with 15% FN-NANO[®] dispersion (Figure 1e), in beech wood also 10% FN-NANO[®] dispersions (Figure 1d), and in spruce, the combination of 1% caffeine solution and 10% FN-NANO[®] dispersion (Figure 1f) also had a relatively good effect. For other types of treatment, the result was better compared to the initially untreated surface, but the positive effect was not as expressive. As with other types of bio-treatments [36], the effect of caffeine treatment on wetting can be explained by waterborne acrylate coating by reducing the contact angle of water wetting and increasing surface free energy, which positively affect the adhesion of coatings to wood [37,38]. Based on our further research, it was found that the contact angle of water wetting in beech decreased after adjustment from the original 63.7° to 52.6° and from 105.6° to 83.4° in spruce, whilst surface free energy increased from 49.15 to 53.70 mN·m⁻² in beech and from 30.5 to 43.9 mN·m⁻² in spruce [39,40]. Regarding the positive effect of FN-NANO[®] containing TiO₂ nanoparticles, it was documented that at certain concentrations—in particular, if TiO₂ nanoparticles penetrate deeper into the wood—the effect on the service life of the top-coating system may not be negative, as evidenced by certain works [24,25]. In fact, they can even reduce the degradation of the under-laying wood surfaces by capturing part of the incident UV and visible radiation spectra. The potential synergistic effect of a mixture of TiO₂ nanoparticles and caffeine on improving the service life of coating systems due to weathering was not demonstrated in this work. Only in the case of spruce was the overall appearance of the coatings slightly better after the combined treatment, whereas for beech it worsened (Figure 1d,e versus Figure 1f,g). Figure 1a shows the fully degraded surface of untreated native wood with a preserved layer of non-photodegradable cellulose [41], causing significant lightening of the test specimens during artificial accelerated weathering (Figure 1a).

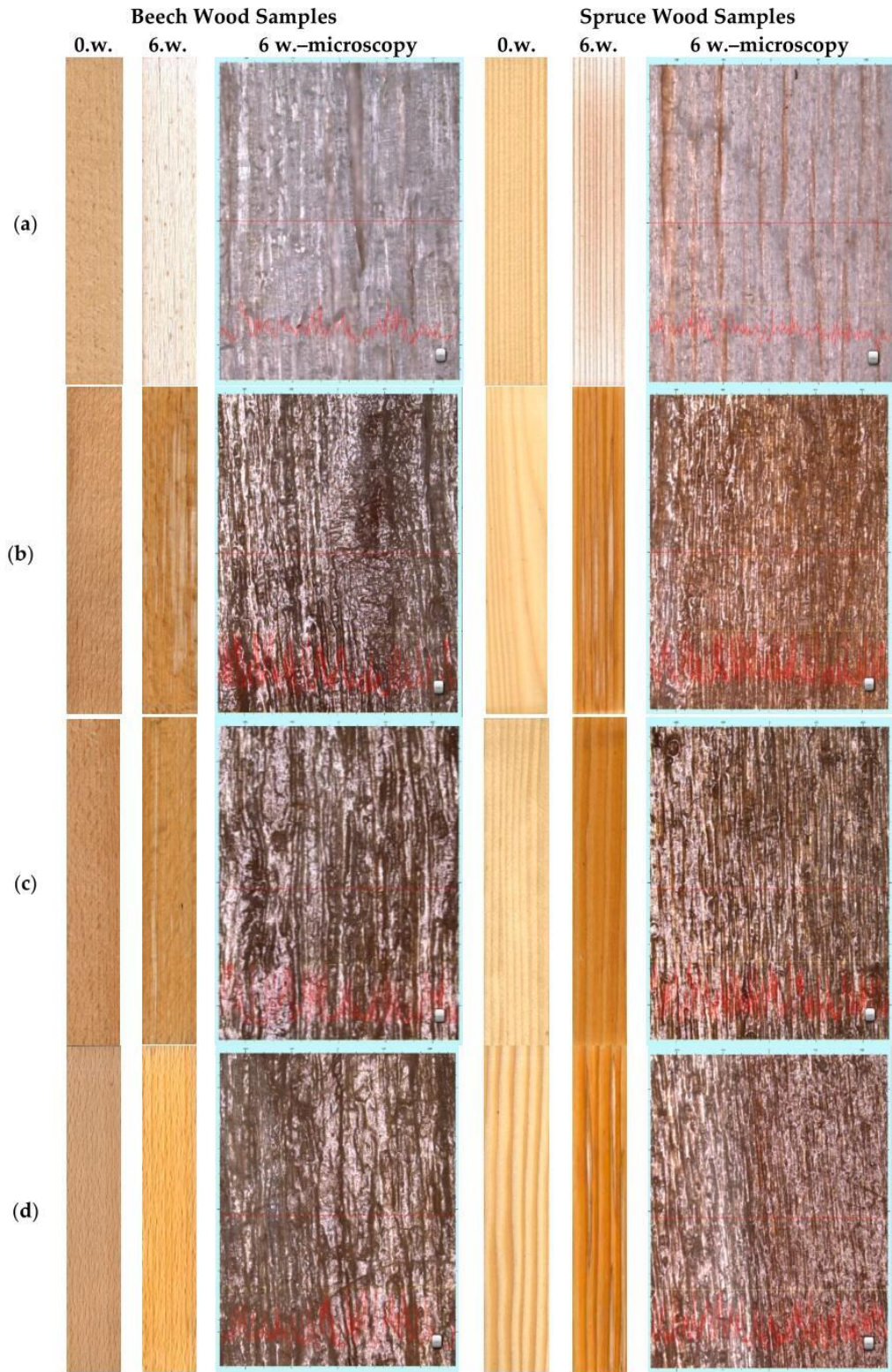


Figure 1. Cont.



Figure 1. Beech (left) and spruce (right) wood samples before (0.w.) and after accelerated weathering (AW) (6.w.). (a) Reference native wood (R-R); (b) acrylic coating on untreated wood (R-A); (c) acrylic coating on caffeine treated wood (5-A); (d) acrylic coating on wood treated with 10% FN-NANO[®] (1-A); (e) acrylic coating on wood treated with 15% FN-NANO[®] (2-A); (f) acrylic coating on wood treated with a mixture of 10% FN-NANO[®] and 1% of caffeine (3-A); (g) acrylic coating on wood treated with a mixture of 15% FN-NANO[®] and 1% of caffeine (4-A). Note: The real observed area of microscopic picture was 2500 μm \times 2500 μm using 108-fold magnification.

Overall, the observed degradations of oil-based coating (Figure 2) were significantly higher compared to the degradations of acrylic coating (Figure 1). They were comparable for both beech and spruce wood without pre-treatment (Figure 2a,c), and the different types of treatments did not have a significant positive impact (Figure 2b,d). For this reason, colour changes, gloss changes, surface wetting, and mould growth were only subsequently evaluated for the acrylic coating system (Figures 3–5 and Table 2).

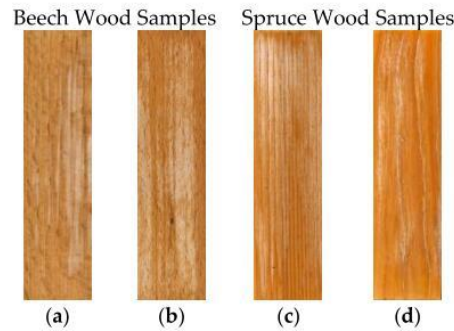


Figure 2. Oil-based coating after 6 weeks of AW. (a) Beech wood without pre-treatment (B-R-O); (b) beech wood with caffeine pre-treatment (B-5-O) achieved the best results from the tested oil-coated variants; (c) spruce wood without pre-treatment (S-R-O); (d) spruce wood with 10% FN-NANO[®] treatment achieved the best results from the tested oil-coated variants (S-1-O).

3.2. Colour, Gloss, and Water Contact Angle Changes during AW

During artificial accelerated weathering, there were significant colour changes in all of the tested surfaces (Figure 3). The changes were smaller for darker beech wood in cases where the coating film was preserved and there was no leaching of darker photodegraded lignin [42], and thus the overall colour change was lower than in comparable cases of overall lighter spruce wood (Figure 1). In contrast, for untreated wood, the ΔE^* was greater for beech, as only light-coloured cellulose remained in the surface zones [4]. Overall, the coated surfaces of the primary treated wood often had a higher overall colour change compared to the untreated surfaces. However, this was due to the disruption of the coating film of the untreated surfaces (R-A) (see also Figure 1) and the leaching of darker photodegraded lignins [43] and subsequent lightening, thus returning the colour to the original lighter shade of wood that had not been weathered. Of the pre-treatments that increased the overall service life of the coating film, they also had a partial effect on reducing the colour changes of 2-A for spruce and 1-A and less 2-A for beech. This confirms the positive effect of TiO₂ on the absorption and reflection of UV radiation, and thus reduces its impact on wood [13,44]. However, it was demonstrated that its effect and suitable concentrations vary for different types of wood (Figure 3). The decrease in gloss of the coatings sensitively predicts the degradation of its surface layers [45,46]. In terms of the tested treatments, a positive effect on the preservation of the original gloss was observed in caffeine-treated spruce wood (Figure 4) with an overall increased service life (Figure 1). The same was observed in beech treated with a higher concentration of TiO₂ nanoparticles B-2-A (Figure 4) with an observed positive effect on colour fastness (Figure 3), as well as the overall service life of the top acrylate coating system (Figure 1). The contact angle of wetting and the reduction of hydrophobicity of the surfaces was observed mainly in untreated photodegraded wood, particularly in beech (Figure 5). Compared to other pre-treatments, a slight decrease in coated samples was only observed for S-1-A, which also confirmed the observed effect on reducing the overall life of the coating film (Figure 1). The hydrophobic effect was otherwise preserved in the samples where the top layer of the coating film was already disturbed (Figure 1), and there were only slight differences in the variability of the observed values (Figure 5). This also corresponds to the results of the work [46], where the preservation of hydrophobicity also did not correspond to the disruption of the overall appearance of the tested oak wood samples. Overall, a relatively high variability of the achieved values was observed (Figures 3–5). This is caused by several factors. The first factor is the variability of the measured values of individual samples in the set due to the inhomogeneity of wood as a material of natural origin. The second reason is the increase in inhomogeneity of some tested surfaces due to weathering, as was documented in Figure 1. It was confirmed that the quality of the coating after aging can be evaluated overall only by a complex of evaluated characteristics, where the overall visual evaluation of the coating film must not be neglected [7].

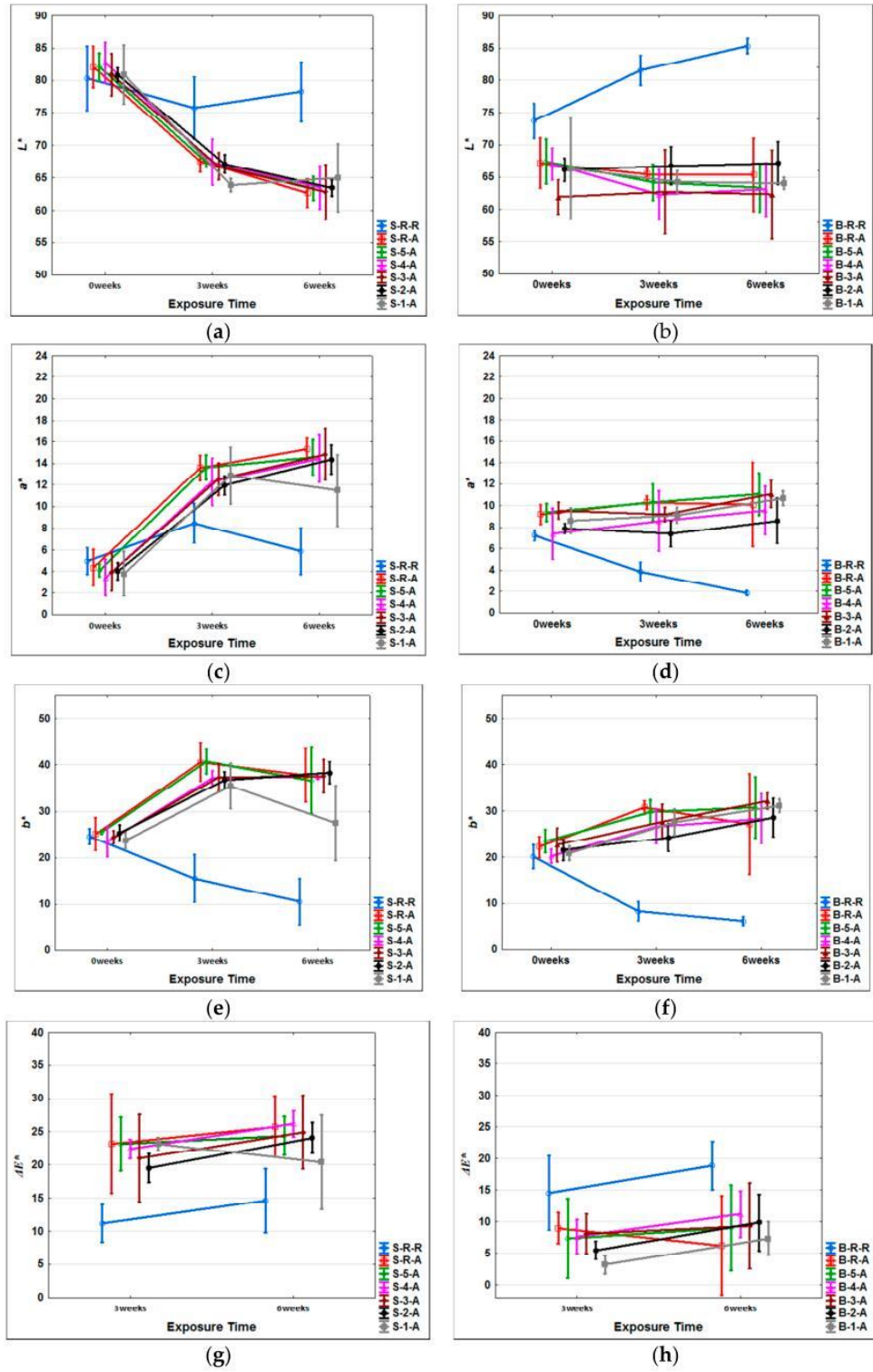


Figure 3. Colour changes in tested wooden surfaces during AW: (a) L^* changes on spruce; (b) L^* changes on beech; (c) a^* changes on spruce; (d) a^* changes on beech; (e) b^* changes on spruce; (f) b^* changes on beech; (g) ΔE^* changes on spruce; (h) ΔE^* changes on beech.

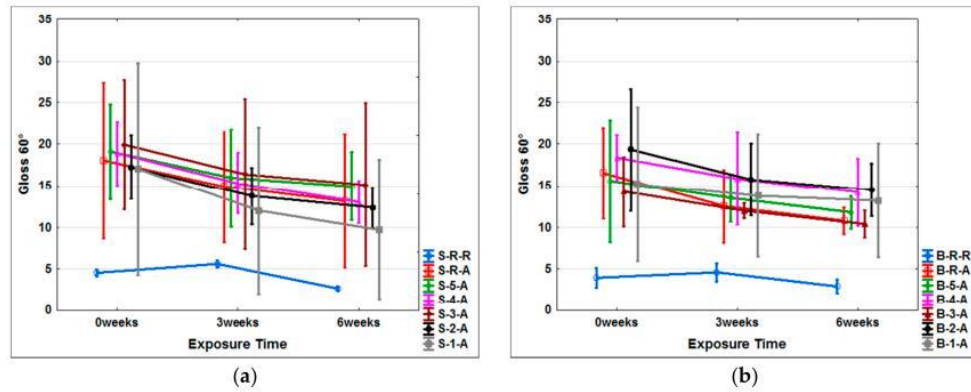


Figure 4. Gloss changes in tested wooden surfaces during AW: (a) Gloss changes on tested spruce samples; (b) Gloss changes on tested beech samples.

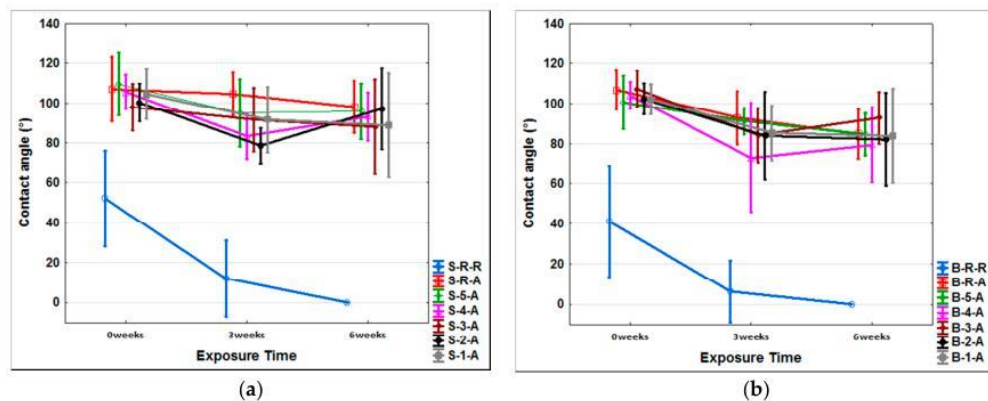


Figure 5. Water contact angle changes in tested wooden surfaces during AW: (a) Water contact angle (°) on tested spruce samples; (b) Water contact angle (°) on tested beech samples.

3.3. Mould Growth Tests

Moulds pose a significant risk of damage to surface-treated wood products outdoors, and moulds have a significant impact on their appearance [5]. There are various methods for testing mould growth on wood and treated wood [3,4,47]. The results can vary depending on the method used [3]. One of the possibilities is to use a free fall of mould spores into a prepared nutrient medium and subsequent insertion of test specimens [48]. This method provides more variable results similar to tests in natural conditions [4]. In this work, the highest rate of observed mould growth from the tested test samples of each series was evaluated (Table 2). This increases the likelihood that the level of risk will be more accurately verified in real exposures, where different species of mould may begin to grow under appropriate conditions [47], or a combination thereof.

In general, compared to spruce, higher mould growth was observed on the surface of the tested coated beech samples (Table 2). This can be explained by the higher natural bio-resistance of spruce wood [27] and also by the better durability of the coating system after AW on spruce wood (Figure 1). Before and after AW, treatment with a 2% caffeine solution (5-A) with a biocidal effect, which was also confirmed in other works, had a positive effect on beech and spruce wood [2,23]. In comparison with the work of Kwaśniewska-Sip et al. [49], a better biocidal effect was achieved due to barrier protection of treated wood with a coating that effectively prevented caffeine leaching during 6 weeks of artificial accelerated weathering. In several cases, a positive effect of treatment with TiO₂ nanoparticles was visible [8]—in particular, at a concentration of 15% FN-NANO[®] (2-A and 4-A), more so in samples

after AW (Table 2). This may be related to the greater exposure of the TiO₂-treated layer connected with the degradation of the acrylate coating, which in itself did not show a significant anti-mould effect. A similar result was observed for spruce wood, but the growth of mould was generally lower than for beech wood. The result confirms that only higher concentrations of TiO₂ nanoparticles have sufficient fungicidal activity, even if the specific amount required is affected by the co-modifying agent [18,50].

Table 2. Maximum mould growth on tested samples before (R) and after weathering (W).

Beech	Degree of Moulds Growth (% of Surface Covered by Moulds in Parenthesis)				Spruce	Degree of Moulds Growth (% of Surface Covered by Moulds in Parenthesis)			
	Time of Moulds Exposure					Time of Moulds Exposure			
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks		1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
B-R-R-R	0 (0)	4 (80)	4 (90)	4 (90)	S-R-R-R	0 (0)	3 (50)	4 (65)	4 (60)
B-R-R-W	0 (0)	3 (50)	4 (60)	4 (75)	S-R-R-W	0 (0)	3 (50)	4 (60)	4 (90)
B-R-A-R	0 (0)	3 (50)	3 (50)	4 (75)	S-R-A-R	0 (0)	3 (40)	4 (55)	4 (65)
B-R-A-W	0 (0)	4 (75)	4 (75)	4 (75)	S-R-A-W	0 (0)	4 (75)	4 (80)	4 (95)
B-5-A-R	0 (0)	1 (5)	1 (5)	2 (10)	S-5-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)
B-5-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	S-5-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
B-4-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	S-4-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (10)
B-4-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	S-4-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
B-3-A-R	0 (0)	4 (75)	4 (85)	4 (100)	S-3-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (10)
B-3-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	S-3-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
B-2-A-R	0 (0)	4 (75)	4 (75)	4 (100)	S-2-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (35)
B-2-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	S-2-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
B-1-A-R	0 (0)	4 (75)	4 (75)	4 (100)	S-1-A-R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)
B-1-A-W	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (25)	S-1-A-W	0 (0)	1 (5)	1 (5)	1 (5)

Note: degree 0 represents the best results; degree 4 represents the worst results.

Research also confirms that the protection of beech wood against bio-attacks by moulds outdoors using coatings is more difficult. In addition to its lower bio-resistance, its greater permeability may also have an effect [51], and thereby increased demands on the amount of applied protective substance, which does not provide sufficient film-forming protection on the wood surface. However, it is encouraging that higher concentrations of the active ingredient TiO₂ used in this research (sets 2-A and 4-A) represented a relatively effective alternative against mould growth (Table 2).

4. Conclusions

Transparent coatings on wood outdoors do not have sufficient service life and colourfastness due to more significant penetration of sunlight into the coating film and the base wood. Another significant factor causing degradation of coatings in humid environments are moulds. The possibility of increasing the durability and resistance to mould attacks in acrylic and oil coating on beech and spruce wood was investigated. Initial treatments of wood by dipping in a 2% solution of caffeine and various concentrations of commercial FN-NANO[®] containing TiO₂ nanoparticles and their mixtures were used. A significant positive effect of caffeine treatment on the service life of the acrylate coating system during accelerated artificial weathering was observed in both types of tested woods. The 15% FN-NANO[®] dispersions treatment also showed good efficiency. The combined effect of a mixture of caffeine and FN-NANO[®] had no significant positive effect. No improved quality of the oil coating was observed using the initial wood treatments. Degradation by moulds was significantly reduced when the wood was initially treated with a 2% caffeine solution. Higher concentrations of FN-NANO[®] dispersion had a positive impact—in particular, on samples degraded for 6 weeks in a UV chamber. Based on the results, it is possible to recommend the initial treatment of spruce and beech wood with a 2% caffeine solution or 15% solution of FN-NANO[®] dispersion containing TiO₂ nanoparticles in order to increase the overall service life of transparent acrylic coating in exterior applications.

Author Contributions: The work presented in this paper is a collaborative development by all of the authors. Conceptualisation: M.P. and K.K.; methodology: M.P.; investigation: K.Š., O.D., P.Š., and D.N.; resources: M.P. and K.K.; data curation: O.S., D.N., and K.Š.; writing—original draft preparation: M.P.; writing—review and editing: K.K.; visualisation, K.Š. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the Czech Science Foundation, Project No. 19-02067S “The effects of methylxanthine-based biocides on the properties of constructional timber” and by Grant “EVA 4.0”, No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000803 financed by OP RDE.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Kržišnik, D.; Lesar, B.; Thaler, N.; Humar, M. Influence of natural and artificial weathering on the colour change of different wood and wood-based materials. *Forests* **2018**, *9*, 488. [\[CrossRef\]](#)
- Feist, W.C. *Weathering and Protection of Wood*; American Wood-Preservers' Association: Kansas City, KS, USA, 1983.
- Imken, A.A.P.; Brischke, C.; Kögel, S.; Krause, K.C.; Mai, C. Resistance of different wood-based materials against mould fungi: A comparison of methods. *Eur. J. Wood Wood Prod.* **2020**, *78*, 661–671. [\[CrossRef\]](#)
- Gobakken, L.R.; Lebow, P.K. Modelling mould growth on coated modified and unmodified wood substrates exposed outdoors. *Wood Sci. Technol.* **2010**, *44*, 315–333. [\[CrossRef\]](#)
- Gaylarde, C.C.; Morton, L.H.G.; Loh, K.; Shirakawa, M.A. Biodeterioration of external architectural paint films—A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2011**, *65*, 1189–1198. [\[CrossRef\]](#)
- Cogulet, A.; Blanchet, P.; Landry, V. The multifactorial aspect of wood weathering: A review based on a holistic approach of wood degradation protected by clear coating. *BioResources* **2018**, *13*, 2116–2138. [\[CrossRef\]](#)
- Evans, P.D.; Vollmer, S.; Kim, J.D.W.; Chan, G.; Gibson, S.K. Improving the performance of clear coatings on wood through the aggregation of marginal gains. *Coatings* **2016**, *6*, 66. [\[CrossRef\]](#)
- Gobakken, L.R.; Westin, M. Surface mould growth on five modified wood substrates coated with three different coating systems when exposed outdoors. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2008**, *62*, 397–402. [\[CrossRef\]](#)
- Evans, P.D.; Haase, J.G.; Shakri, A.; Seman, B.M.; Kiguchi, M. The search for durable exterior clear coatings for wood. *Coatings* **2015**, *5*, 830–864. [\[CrossRef\]](#)
- Cristea, M.V.; Riedl, B.; Blanchet, P. Enhancing the performance of exterior waterborne coatings for wood by inorganic nanosized UV absorbers. *Prog. Org. Coat.* **2010**, *69*, 432–441. [\[CrossRef\]](#)
- George, B.; Suttie, E.; Merlin, A.; Deglise, X. Photodegradation and photostabilisation of wood—The state of the art. *Polym. Degrad. Stab.* **2005**, *88*, 268–274. [\[CrossRef\]](#)
- Forsthuber, B.; Schaller, C.; Grill, G. Evaluation of the photo stabilising efficiency of clear coatings comprising organic UV absorbers and mineral UV screeners on wood surfaces. *Wood Sci. Technol.* **2013**, *2*, 281–297. [\[CrossRef\]](#)
- Wang, X.; Liu, S.; Chang, H.; Liu, J. Sol-gel deposition of TiO₂ nanocoatings on wood surfaces with enhanced hydrophobicity and photostability. *Wood Fiber Sci.* **2014**, *46*, 109–117.
- Sandberg, D. Additives in Wood Products—Today and Future Development. In *Environmental Impacts of Traditional and Innovative Forest-Based Bioproducts, Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*; Springer Science + Business Media Singapore: Singapore, 2016; pp. 105–172. [\[CrossRef\]](#)
- Reinprecht, L. *Wood Deterioration, Protection and Maintenance*, 1st ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2016; p. 376.
- Verdier, T.; Coutand, M.; Bertron, A.; Roques, C. Antibacterial Activity of TiO₂ photocatalyst alone or in coatings on *E. coli*: The influence of methodological aspects. *Coatings* **2014**, *4*, 670–686. [\[CrossRef\]](#)
- Guo, H.; Michen, B.; Burgert, I. Real test-bed studies at the ETH House of Natural Resources—wood surface protection for outdoor applications. *Inf. Constr.* **2017**, *69*, 9. [\[CrossRef\]](#)
- Salem, M.Z.M.; Mansour, M.M.A.; Mohamed, W.S.; Ali, H.M.; Hatamleh, A.A. Evaluation of the antifungal activity of treated *Acacia saligna* wood with Paraloid B-72/TiO₂ nanocomposites against the growth of *Alternaria tenuissima*, *Trichoderma harzianum* and *Fusarium culmorum*. *BioResources* **2017**, *12*, 7615–7627. [\[CrossRef\]](#)
- Singh, T.; Singh, A.P. A review on natural products as wood protectant. *Wood Sci. Technol.* **2012**, *46*, 851–870. [\[CrossRef\]](#)

20. Arora, D.S.; Ohlan, D. In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *J. Basic Microbiol.* **1997**, *37*, 159–165. [CrossRef]
21. Kwaśniewska-Sip, P.; Cofta, G.; Nowak, P.B. Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2018**, *132*, 178–184. [CrossRef]
22. Kobetičová, K.; Nábělková, J.; Ďurišová, K.; Šimůnková, K.; Černý, R. Antifungal activity of methylxanthines based on their properties. *BioResources* **2020**, *15*, 8110–8120. [CrossRef]
23. Broda, M.; Mazela, B.; Frankowski, M. Durability of wood treated with AATMOS and caffeine—Towards the long-term carbon storage. *Maderas Cienc. Tecnol.* **2018**, *20*, 455–468. [CrossRef]
24. Moya, R.; Rodríguez-Zuniga, A.; Vega-Baudrit, J.; Puente-Urbina, A. Effects of adding TiO₂ nanoparticles to a water-based varnish for wood applied to nine tropical woods of Costa Rica exposed to natural and accelerated weathering. *J. Coat. Technol. Res.* **2016**, *14*, 141–152. [CrossRef]
25. Pánek, M.; Hýsek, Š.; Dvořák, O.; Zeidler, A.; Oberhofnerová, E.; Šimůnková, K.; Šedivka, P. Durability of the exterior transparent coatings on nano-photostabilized English oak wood and possibility of its prediction before artificial accelerated weathering. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 1568. [CrossRef] [PubMed]
26. EN 335:2013 *Durability of Wood and Wood-Based Products—Use Classes: Definitions, Application to Solid Wood and Wood-Based Products*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2013.
27. EN 350:2016 *Durability of Wood and Wood-Based Products—Testing and Classification of the Durability to Biological Agents of Wood and Wood-Based Materials*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2016.
28. Pánek, M.; Reinprecht, L. Colour stability and surface defects of naturally aged wood treated with transparent paints for exterior constructions. *Wood Res.* **2014**, *59*, 421–430.
29. Reinprecht, L.; Pánek, M. Effects of wood roughness, light pigments, and water repellent on the color stability of painted spruce subjected to natural and accelerated weathering. *BioResources* **2015**, *10*, 7203–7219. [CrossRef]
30. Gejdoš, M.; Lieskovský, M.; Potkány, M.; Nozdrovický, L. The future perspectives of spruce and fir wood use in selected countries of the Central Europe for wooden constructions. In *Increasing the Use of Wood in the Global Bio-Economy 2018*; Proceeding paper; University of Belgrade: Belgrade, Serbia; WoodEMA: Zagreb, Croatia, 2018; pp. 160–167.
31. Burri, S.; Haeler, E.; Eugster, W.; Haeni, M.; Etzold, S.; Walthert, L.; Braun, S.; Zweifel, R. How did Swiss forest trees respond to the hot summer 2015? *Erde* **2019**, *150*, 214–229. [CrossRef]
32. EN 927-6:2008 *Paints and Varnishes. Coating Materials and Coating Systems for Exterior Wood. Exposure of Wood Coatings to Artificial Weathering Using Fluorescent UV Lamps and Water*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2008.
33. Stearns, E.I. *Colorimetry*, 2nd ed.; Commission Internationale de l’Eclairage: Vienna, Austria, 1986; p. 74.
34. EN ISO 2813:2015 *Paints and Varnishes, Determination of Gloss Value at 20°, 60° and 85°*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2015.
35. ČSN 49 0604:1982 *Protection of Wood*. In *Methods for Determining the Biocidal Properties of Wood Preservatives*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1982.
36. Ziglio, A.C.; Sardela, M.R.; Goncalves, D. Wettability, surface free energy and cellulose crystallinity for pine wood (*Pinus* sp.) modified with chili pepper extracts as natural preservatives. *Cellulose* **2018**, *25*, 6151–6160. [CrossRef]
37. Bulian, F.; Graystone, J. *Wood Coatings—Theory and Practice*; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, 2009; p. 320. ISBN 978-0444528407.
38. de Meier, M. A Review of Interfacial Aspects in Wood Coatings: Wetting, Surface Energy, Substrate Penetration and Adhesion. COST E18 Final Seminar 2005 16pp. Available online: <https://www.researchgate.net/publication/260601859> (accessed on 9 March 2014).
39. Šimůnková, K.; Reinprecht, L.; Nábělková, J.; Kindl, J.; Borůvka, V.; Šobotník, J.; Lišková, T.; Pánek, M. Caffeine—Perspective natural biocide for wood protection in interiors against decaying fungi and termites. **2020**. Prepared for publication.
40. Šimůnková, K.; Zeidler, A.; Schönfelder, O.; Pánek, M. Impact of modification by caffeine on some surface properties of beech wood. In *Proceedings of the 9th Hardwood Conference, Sopron, Hungary, 21–22 October 2020*. (moved due to pandemic to 2021).
41. Volkmer, T.; Noël, M.; Arnold, M.; Strautmann, J. Analysis of lignin degradation on wood surfaces to create a UV-protecting cellulose rich layer. *Int. Wood Prod. J.* **2016**, *7*, 156–164. [CrossRef]

42. Müller, U.; Ratzsch, M.; Schwanninger, M.; Steiner, M.; Zobl, H. Yellowing and IR-changes of spruce wood as result of UV-irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2003**, *69*, 97–105. [CrossRef]
43. Sudiyani, Y. Chemical characteristics of surfaces of hardwood and softwood deteriorated by weathering. *J. Wood Sci.* **1999**, *45*, 348–353. [CrossRef]
44. Pánek, M.; Oberhofnerová, E.; Hýsek, Š.; Šedivka, P.; Zeidler, A. Colour stabilization of oak, spruce, larch and Douglas fir heartwood treated with mixtures of nanoparticles dispersions and UV-stabilizers after exposure to UV and VIS-radiation. *Materials* **2018**, *11*, 1653. [CrossRef] [PubMed]
45. Ghosh, M.; Gupta, S.; Kumar, V.S.K. Studies on the loss of gloss of shellac and polyurethane finishes exposed to UV. *Maderas Cienc. Technol.* **2015**, *17*, 39–44. [CrossRef]
46. Pánek, M.; Oberhofnerová, E.; Zeidler, A.; Šedivka, P. Efficacy of hydrophobic coatings in protecting oak wood surfaces during accelerated weathering. *Coatings* **2017**, *7*, 172. [CrossRef]
47. Lie, S.K.; Thiis, T.K.; Vestol, G.I.; Hoibo, O.; Gobakken, L.R. Can existing mould growth models be used to predict mould growth on wooden claddings exposed to transient wetting? *Build. Environ.* **2019**, *152*, 192–203. [CrossRef]
48. Wasserbauer, R. Microbial biodeterioration of electrotechnical insulation materials. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2004**, *53*, 171–176. [CrossRef]
49. Kwaśniewska-Sip, P.; Bartkowiak, M.; Cofta, G.; Nowak, P.B. Resistance of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) after treatment with caffeine and thermal modification against *Aspergillus niger*. *BioResources* **2019**, *14*, 1890–1898. [CrossRef]
50. Fonseca, C.; Ochoa, A.; Ulloa, M.T.; Alvarez, E.; Canales, D.; Zapata, P.A. Poly(lactic acid)/TiO₂ nanocomposites as alternative biocidal and antifungal materials. *Mat. Sci. Eng. C-Biomim.* **2015**, *57*, 314–320. [CrossRef]
51. Požgaj, A.; Chovanec, D.; Kurjatko, S.; Babiak, M. *Štruktúra a Vlastnosti Dreva. (Structure and Properties of Wood)*, 1st ed.; Príroda a.s.: Bratislava, Slovakia, 1993; p. 485.

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

4.5 Levandulový olej jako eco-friendly alternativa k ochraně dřeva před termity bez negativního efektu na vlastnosti dřeva

Dřevo trpí mnoha biologickými poškozeními a poslední snahy se zaměřují na přírodě blízké udržitelné technologie ochrany dřeva, které by nahradily klasické syntetické prostředky s negativním dopadem na mnoho necílových organismů, včetně člověka.

Tento výzkum zkoumal biocidní účinnost levandulového oleje při ochraně dřeva smrku ztepilého (*Picea abies*) proti houbě *Rhodonía placenta* a termitům *Reticulitermes flavipes*. Následně byly hodnoceny vybrané fyzikální vlastnosti smrkového dřeva ošetřeného esenciálním olejem: barevné změny, drsnost, povrchové smáčení vodou a volná povrchová energie (SFE).

Výsledky ukázaly, že levandulový olej zvýšil odolnost dřeva vůči termitům téměř na úroveň komerčních biocidů na bázi trojmocného boru a kvartérní amoniové soli. Dodatečná hydrofobní úprava zajistila plnou odolnost i po umělém venkovním stárnutí v Xenotestu nebo vyplavení ve vodě podle EN 84, což ukazuje vysoký potenciál ošetření levandulovým olejem k ochraně dřeva v exteriéru vystaveném termitům. Naopak účinnost levandulového oleje proti houbě hnědé hniloby nebyla v nízké koncentraci dostatečná. Barva dřeva ošetřeného olejem byla zachována, jeho drsnost se mírně zvýšila a smáčení a SFE vedlo k pozitivní změně, která zlepšila přilnavost potenciálně aplikovaných venkovních nátěrů nebo lepidel.

Zpracováno na základě článku s IF 4,380 (2020) ve WoS:

ŠIMŮNKOVÁ, K., HÝSEK, Š., REINPRECHT, L., ŠOBOTNÍK, J., LIŠKOVÁ, T., PÁNEK, M. (2022). Lavender oil as eko-friendly alternative to protect wood against termites without negative effect on wood properties. *Scientific Reports*.

Lavender oil as eco-friendly alternative to protect wood against termites without negative effect on wood properties

Kristýna Šimůnková¹, Štěpán Hýsek¹, Ladislav Reinprecht², Jan Šobotník^{1,3}, Tereza Lišková¹,
Miloš Pánek^{1*}

¹ Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00 Prague 6, Czech Republic, simunkovak@fld.czu.cz, hyseks@fld.czu.cz, liskovatereza@gmail.com, panekmilos@fld.czu.cz

² Faculty of Wood Sciences and Technology, Technical University in Zvolen, Masarykova 24, 960 53 Zvolen, Slovak Republic, reinprecht@tuzvo.sk

³ Faculty of Tropical AgriSciences, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 00 Prague 6, Czech Republic, sobotnik@ftz.czu.cz

*Corresponding author(s). E-mail(s): panekmilos@fld.czu.cz; Tel.: +420-224-383-867

ORCID: Kristýna Šimůnková (0000-0001-5796-9785), Štěpán Hýsek (0000-0001-8642-0847), Ladislav Reinprecht (0000-0002-0498-3345), Jan Šobotník (0000-0002-8581-637X), Miloš Pánek (0000-0002-0401-4835)

Highlights

- Eco-friendly lavender oil treatment of spruce wood increased its resistance against termites
- Water-leachable lavender essential oil was fixed in the wood using additional hydrophobic layer
- Simple and cheap long-term dipping technology was sufficient for lavender oil wood protection
- The described treatment is useful for preventive indoor or outdoor wood protection

Abstract

Purpose Timber suffers from various biological damages. Recent efforts aim on nature-friendly sustainable technologies of wood protection to replace classical synthetic agents having usually negative impact on many non-target organisms including man.

Methods This research investigated the biocidal effectiveness of lavender oil (LO) in protecting the Norway spruce (*Picea abies*) wood against the termites *Reticulitermes flavipes* and the brown-rot fungus *Rhodonina placenta*. Following, selected physical characteristics of spruce wood treated with LO were evaluated: colour changes, roughness, surface wetting with water and surface free energy (SFE).

Results Experiments showed that LO increased the resistance of spruce wood to termites nearly to the level of its treatment with commercial biocide based on trivalent boron and quaternary ammonium salt. The additional hydrophobic treatment of wood ensured its full termite-resistance even after artificial weathering in Xenotest and leaching in water according to EN 84, respectively. It shows a high potential of LO to protect wood against termites. Adversely, the effectiveness of 5% LO against rot was not sufficient. The colour of the oil-treated wood was preserved, its roughness increased slightly, and wetting and

SFE led to a positive change, improving the adhesion of potentially applied coatings or adhesives for exterior exposures.

Key words: lavender oil; spruce wood; dipping; bio-attack; durability

1. Introduction

The shift from organophosphates and other toxic protectants of wood to environmental- and health-friendly alternatives poses numerous challenges on the applied research [1], [2]. Many conventional preservatives, based on serious pollutants such as creosote oils, arsenic, chromium, chlorinated hydrocarbons or organometals [3], are no longer tolerated in many countries [3]-[11]. New active substances need to be sought out, ideally from renewable raw materials, which have low toxicity and are not leached from the wood [12]. In contrast to a spectrum of unacceptable compounds, only a few synthetic biocides meet criteria expected from the future use. Irrespectively of the nature and origin of the biocide, additional hydrophobic coating of treated wood is usually used to improve the long-term stability [13]-[16]. Another promising alternative is targeted modification of the wood structure – thermally modified wood, acetylated wood, etc. [17].

Two basic approaches, preventive and repressive, are commonly used to protect the wood against destroying organisms. The preventive methods include all measures of creating adverse conditions to stop the pests from interfering with the wood structure. The repressive methods take place after the wood damage, and should in theory be replaced by a viable preventive approach [18]. The structural protection is always the priority, and selection of a durable type of wood, insulation against moisture, and preventive treatment against a local pool of pests helps to sustain the wood for much longer. Also wood in historic buildings, furniture or artwork needs to be protected from damage [19], with chemical or modification protection being more important when structural protection cannot be fully implemented [17], [20]-[23]. The long-term efficacy of biocide treatments is closely related to the wood permeability and its surface free energy (SFE) [24]-[28]. The Norway spruce (*Picea abies*) wood, used as model material in this experiment, is widespread in Europe [15], [29], [30]. Number of works have dealt with increasing its durability, including its low permeability for preservatives [31], [32]. It would thus be highly advantageous to ensure environmentally-acceptable protection of spruce wood against bio attacks using low-cost dipping technology, i.e. without technologically-demanding pressure impregnation as currently required [34].

Various pests use diverse means of digesting the lignocellulose matrix of the wood [35]. While fungi rely upon fibred growth through the wood veins combined with release of digestive enzymes to the exterior leading to white-, brown- or soft-rots [36], the wood-feeding insects, in particular beetles and termites, bore holes, weakening thus the wood profile and adequately also the mechanical properties [37]. Termites are the most serious insect pest in wood in subtropical and tropical areas [38], [39]. Some 10% of roughly 3.000 species of termites are known to cause a damage, with only a dozen of them being invasive pests of timber [40]. Termites are known for their voracious habits causing immense losses on properties, deciphred to 40 billion USD annually [41]. While termites are efficient decomposers of organic matter irrespectively of a stage of decomposition [42], [43], two ecological groups are responsible on the wood damage: dry-wood termites (Blattodea: Kalotermitidae: *Cryptotermes* mostly) and subterranean termites (Blattodea: Rhinotermitidae: *Coptotermes*, *Reticulitermes* and some others). While dry-wood

termites colonise wood items through the air and are not dependent on external water sources, they live unseen until the structure loses its integrity. On the other hand, the subterranean termites live in large populous colonies – living outside of the house, and can eventually recruit stunning mass of workers feeding on the wood per more than 100 kg a year in mature colony [41], [44].

The plant's essential oils (EOs) are rich in a broad spectrum of molecule species (many terpenes, carbohydrates, alcohols, ethers, aldehydes and ketones [45]-[47]), and are recognized beneficial since the dawn of people [20], [48]-[51]. It is thus not surprising that several extracts showed impressive wood-protecting abilities, and receive the attention from the applied sciences [50], [52]-[54]). Many EOs reduce populations of bacteria, viruses, fungi, insects and plants, whilst many others having a strong positive effect on human health [49], [55], [57]. Some of them show effectiveness not only against fungi, but also against termite attack as wood preservatives [46]. Lavender (*Lavandula* sp.) belongs to the most common decorative plants in Mediterranean [58]. Production of lavender oil (LO) reaches 1.500 tons a year. This oils is used mainly in cosmetics and medicine [49], [59]-[64]. At the same time, the potential of LO in wood protection was not much studied so far (but see [50], [52], [65]).

To fill this gap, we conducted well-designed study of one natural compound containing LO to one commercial biocide Bochemit QB based on boric acid and alkylbenzyltrimethylammonium chloride used for the protection of the Norway spruce mature wood. For these two formulations, used alone or with an additional hydrophobic substance, was tested their efficiency against two detrimental pests – the termites *Reticulitermes flavipes* and the brown-rot fungus *Rhodonia placenta*, as well as their effect on selected physical properties of wood.

2. Materials and Methods

2.1. Wood samples

Samples of the Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) mature wood, with an average density of $412 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ and dimensions of 50x25x15 mm, were used for testing the resistance to decaying fungi according to EN 113 [66], and selected physical characteristics – colour, roughness, contact angle of wetting with distilled water, and computed surface free energy (SFE). For the termite resistance test, 50x15x10 mm samples were used, having slightly modified dimensions compared to the standard EN 118 [67] due to relatively low weight loss during short-term exposure.

Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) represent the only commercially used species from *Spruce* genera in Central Europe. It is artificially planted in commercial forests. Our testing material comes from commercial pure stands, the trees were chosen randomly, and they were free of any defects and irregularities. There was no need to identify the trees (or timber) as we have no similar species in Czech Republic and there is so no possibility of confusion. This material was obtained in compliance with all institutional, national, and international guidelines and legislation.

Prior to following treatment, wooden samples were conditioned in laboratory at a temperature of 20 °C and an air humidity of 65% to an equilibrium moisture content (MC) of $12\% \pm 1\%$.

2.2. Substances and methods of wood treatment

The impregnation solution was made from 5% lavender (*Lavandula angustifolia* Mill. x *Lavandula latifolia* Medik.) essential oil (Yellow & Blue, Tierra Verde, Popůvky u Brna, Czech Republic), 70% ethanol and 25% distilled water. The exact identification of the plant material has not been carried out, as it is an extract from plants originating from French commercial plantations. Major effective components in lavender oil defined by producer, confirmed and certified by France Lavande (Montguers, France) as product FR-BIO-01 are: Linalool (37 %), Cineole (<12.5%), Camphor (<11%), Limonene (1.5 %), Geraniol (0.5%) and Eugenol, Coumarin, benzyl benzoate (together <1%). The essential oil was purchased from Tierra Verde (Czech Republic) in compliance with all institutional, national, and international guidelines and legislation.

Commercial biocide “Bochemit QB” (20% boric acid, 20% alkylbenzyltrimethylammonium chloride (QAC), <9.5 % 2-aminoethanol and distilled water; Bochemie Wood Care, s.r.o., Bohumín, Czech Republic) is commercial biocide – fungicidal and insecticidal water-soluble preservative – for preventive outdoor long-term protection of wood, and it was used as 20% (w/w) water-solution.

The hydrophobic substance consisted of a 6% aqueous dispersion containing 2% silane-siloxane emulsion (Lukofob DxL, Lučební závody a.s., Kolín, Czech Republic), 2% wax emulsion with glass particles about 5 µm in diameter (Horsemen concrete, Horsemen, Belgium), and 2% pure wax emulsion (Horsemen Stonecare, Horsemen, Belgium).

Both solutions were applied at room temperature by 8 hour dipping. Half of treated samples was, after reconditioning to moisture content (MC) of $12 \pm 2\%$, dipped 6 hours by the hydrophobizer. The retention of solutions and active substances into the sample, as well as the labelling of the sample, are specified in Tab. 1.

Table 1.

Retention of solutions and active substances into wood samples

Set of samples	Wood species	Lavender oil (5%)		Bochemit QB (20%)			Hydrophobizer Solution retention* (kg.m ⁻³)
		Retention (kg.m ⁻³)		Retention (kg.m ⁻³)			
		Solution	Active LO	Solution	Boric acid	QAC	
REF-P	Pine	-	-	-	-	-	-
U-O	Spruce	-	-	-	-	-	-
U-H	Spruce	-	-	-	-	-	117 (±20)
L-O	Spruce	121 (±20)	6.05 (±0.68)	-	-	-	-
L-H	Spruce	119 (±21)	5.95 (±0.71)	-	-	-	119 (±19)
B-O	Spruce	-	-	119 (±18)	4.76 (±0.72)	4.76 (±0.72)	-
B-H	Spruce	-	-	119 (±18)	4.76 (±0.72)	4.76 (±0.72)	119 (±21)

*Note: Explanation of symbols: Scotch pine wood – (REF-P) is reference required by EN 113; Other symbols are valid for the Norway spruce wood: Untreated original – (U-O); Untreated, but with the additional hydrophobic substance – (U-H); Treated with the lavender oil – (L-O); Treated with the lavender oil and then with the hydrophobic substance (L-H); Treated with the Bochemit QB – (B-O); Treated with the Bochemit QB and then with the hydrophobic substance – (B-H).

Only the retention of the 6% hydrophobizer solution is given.

2.4. Aging – leaching according to EN 84 and artificial weathering in Xenotest

One group (1st group) of wood samples was used for experiments without additional aging. The second group (2nd group) of samples was subjected to a 14 days leaching procedure by EN 84 [68]. The third group (3rd group) of samples was subjected to artificial weathering in Xenotest based on standard EN 927-6 [69]. The following parameters were set in the Xenotest chamber: total exposure time 320 hours (2.5 hour irradiation and 0.5 hours of spraying in the dark in one cycle); the set radiation intensity 55 W.m⁻² (T-UV between 300-400 nm); temperature on black panel 70 °C; air temperature 45 °C, relative air humidity 30%; the total energy of the radiation that fell on the test specimens 13,210 kJ.m⁻². After aging procedures, the samples were again air-conditioned at w≈12%.

2.5. Bio-resistance to the termite *Reticulitermes flavipes* and the brown-rot fungus *Rhodonía placenta*

Six tested samples per each treatment type were subjected to *Reticulitermes flavipes* (Kollar) termite attacks according to standard EN 118 [67]. Each sample was put in Petri dish (ø 90 mm) with 100 g of sand, 50 mL of distilled water and 100 termite workers. The Petri dishes were in constant dark for 6 weeks at 12 h + 30 °C and 12 h + 20 °C regime. Attack resistance was assessed in terms of mass losses (Δm in % scored from oven-dry wood before and after exposure).

Four wood samples, per each treatment type, were placed in 1 litre Kolle glass flasks for attack by the brown-rot fungus *Rhodonía placenta* (Fr.) Niemel", K.H. Larss & Schigel, strain FPRL 280, obtained from Building Research Establishment, Garston - Watford - Herst, UK), in accordance with standard EN 113 [66]. After 16 weeks, the resistance of the tested samples was evaluated on the bases of their mass losses (Δm in %). As reference standard were tested samples of the Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) wood (REF-P).

2.6. Wood surface changes in colour, wetting by water, surface free energy and roughness

Colour parameters [70] of spruce samples before and after lavender treatment were measured on eight samples from each series using Spectrophotometer CM-600d (Konica Minolta, Osaka, Japan) set to an observation angle of 10°, d/8 geometry, D65 light source, and the SCI method. We carried out six measurements per sample, a total of 48 per each set of samples. The colour difference according to the Euclidean distance ΔE^* [70] was calculated using the Equation (1):

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^*{}^2 + \Delta a^*{}^2 + \Delta b^*{}^2} \quad (1)$$

where ΔL^* , Δa^* , and Δb^* are relative changes in colour after lavender treatment; L^* is lightness from 0 (black) to 100 (white), a^* is chromaticity coordinate + (red) or – (green), and b^* is chromaticity coordinate + (yellow) or – (blue).

The contact angles of distilled water (CA_{water}°) were measured on goniometer Krüss DSA 30E (Krüss, Hamburg, Germany) with Krüss software (Krüss, Hamburg, Germany), and determined CA_{water}° values were by ORWK model used for determination of the surface free

energies (SFE in $\text{mN}\cdot\text{m}^{-2}$). In the sessile drop method with a droplet size of 5 μL , the contact angles were measured 5 seconds after the drop was placed on the material (according to Petrič and Owen, 2015 [71]). The measurements were performed at a room temperature of 20 °C and a relative humidity of 60%. For SFE calculation the distilled water was used as the polar liquid and the diiodomethane as non-polar fluid. Measurements were performed on a total of 8 samples from each series and a total of 48 measurements per each treatment (see Table 1).

Surface roughness before and after lavender oil treatment was studied in accordance with EN ISO 4287 (1997) [72] and EN ISO 4288 (1996) [73] using contact Form Talysurf Intra (Taylor Hobson, Leicester, UK). Measurements were performed for 6 samples from each series (on 4 places on each sample), i.e., totally 24 measurements in the cross direction were carried out for one series. Evaluated parameters were: R_a - roughness average in μm ; R_z - the highest profile height in μm ; R_{Sm} - roughness spacing mean in μm ; R_c - average height of profile elements in μm .

2.7. Microscopic (SEM) and elemental composition analyses

The selected surface section of the spruce samples treated with lavender oil, other treatments, controls and aged samples were analysed using a MIRA 3 scanning electron microscope (Tescan Orsay Holding, Brno, Czech Republic). The elemental compositions were examined by an energy dispersive spectroscopy system (Bruker XFlash X-ray detector, Karlsruhe, Germany, and ESPRIT 2 software).

2.8. Statistical evaluation

Statistical analyses were performed in MS Excel 2016 and Statistica 13.2 (StatSoft, Palo Alto, CA, USA) using mean values (Mean), standard deviations (SD), whisker plots with mean values and $\pm 2SD$, and Tukey HSD test at 95% statistical significance.

3. Results and Discussion

3.1. Termite resistance

Different treatments of spruce wood led to various mass losses caused by termites *R. flavipes* as presented in Fig. 1. Activity of termites was severely affected by the lavender oil treatment (Table 2). Without aging, the commercial biocide (insecticide + fungicide) Bochemit QB was only partly more effective than the lavender oil, at which no significant difference between these two substances occurred (Fig. 1). High efficacy of the lavender oil was supported by low survival of termites after feeding on treated wood (Table 2). The hydrophobic treatment alone did not protect the spruce wood from termites, but after aging procedures helped significantly to stabilise the lavender oil within the tested wood samples (Fig. 1).

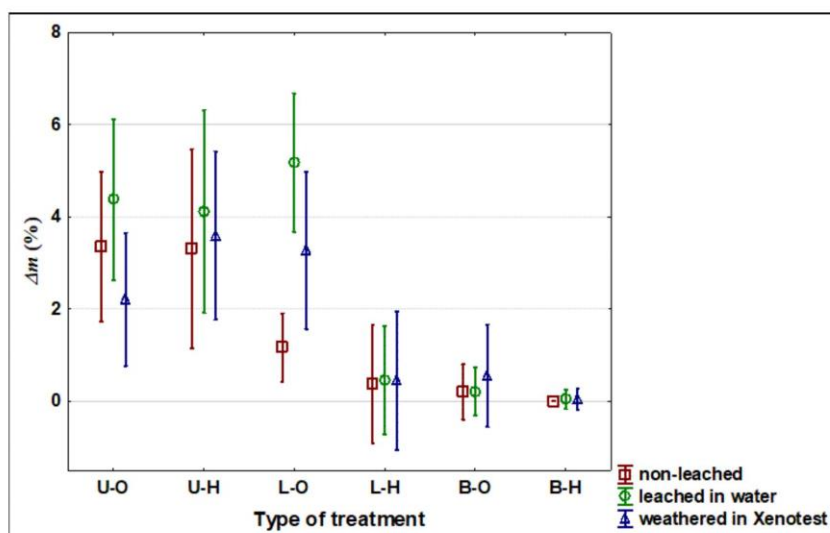


Fig. 1 Mass losses (Δm) of the Norway spruce wood samples after 6-weeks attack by termites *Reticulitermes flavipes*. Untreated original – (U-O); Untreated, but with the additional hydrophobic substance – (U-H); Treated with the lavender oil – (L-O); Treated with the lavender oil and then with the hydrophobic substance (L-H); Treated with the Bochemit QB – (B-O); Treated with the Bochemit QB and then with the hydrophobic substance – (B-H).

Table 2.

Survival of termites after 6 weeks of termite attack by EN 118. Untreated original – (U-O); Untreated, but with the additional hydrophobic substance – (U-H); Treated with the lavender oil – (L-O); Treated with the lavender oil and then with the hydrophobic substance (L-H); Treated with the Bochemit QB – (B-O); Treated with the Bochemit QB and then with the hydrophobic substance – (B-H).

Set of samples	Spruce Untreated – U		Spruce Lavender oil treated - L		Spruce Bochemit QB treated - B	
	U-O	U-H	L-O	L-H	B-O	B-H
Aging type	Survival of termites (%)					
Without aging	19.37 (20.39)	31.32 (13.82)	0.00	0.00	0.00	0.00
Leaching by EN 84	53.53 (4.94)	53.45 (11.55)	31.98 (25.91)	9.88 (11.36)	0.00	0.00
Weathering in Xenotest	41.95 (20.90)	53.13 (13.51)	53.60 (9.57)	0.00	0.00	0.00

Note: Mean values are from 6 replicates; Numbers in parentheses are SD

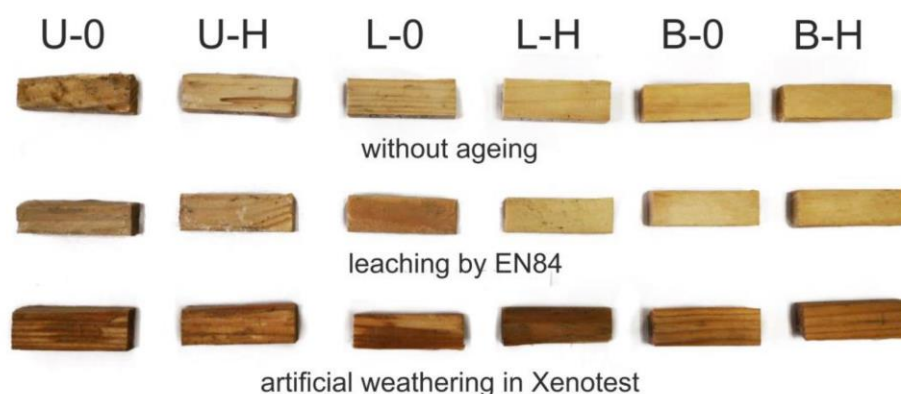


Fig. 2 Samples demonstrating termite activity after 6 weeks of testing based on EN 118. Untreated original – (U-O); Untreated, but with the additional hydrophobic substance – (U-H); Treated with the lavender oil – (L-O); Treated with the lavender oil and then with the hydrophobic substance (L-H); Treated with the Bochemit QB – (B-O); Treated with the Bochemit QB and then with the hydrophobic substance – (B-H).

Results clearly show that lavender EO is an effective insecticide (Figs. 1 and 2), similarly to other EOs protecting the wood against various pests including termites [74]-[77]. Our findings are thus of prime importance as termites belong to the most feared pests of built-in wood [40], [41]. Repellent effects of lavender oil can be attributed mainly to linalool, linalyl acetate, 1,8-Cineole, Camphor, Borneol, Lavandulyl acetate [47], [76], [47]. Work of Kartal et al. [75] showed good efficacy of cinnamon essential oils and cinnamic derivatives against subterranean termites *Coptotermes formosanus*, but only 3-weeks tests were used. More other essential oils were effective against termites, limitations for wood protection in practice are that only nutrient medium was used or no information about treatment method was disclosed [46].

3.2 Brown rot resistance

Lavender oil, alone or in combination with the hydrophobic substance, did not improve the spruce wood resistance against the brown-rot fungus *R. placenta* (Fig. 3). In fact, we used lower, economically acceptable 5% concentration of the lavender EO, without or in combination with hydrophobizer. On the other hand, in previous experiments higher concentrations of lavender EO (10% or more) showed at least its partial effectiveness against decaying fungi and growth of moulds [50], [52], [78].

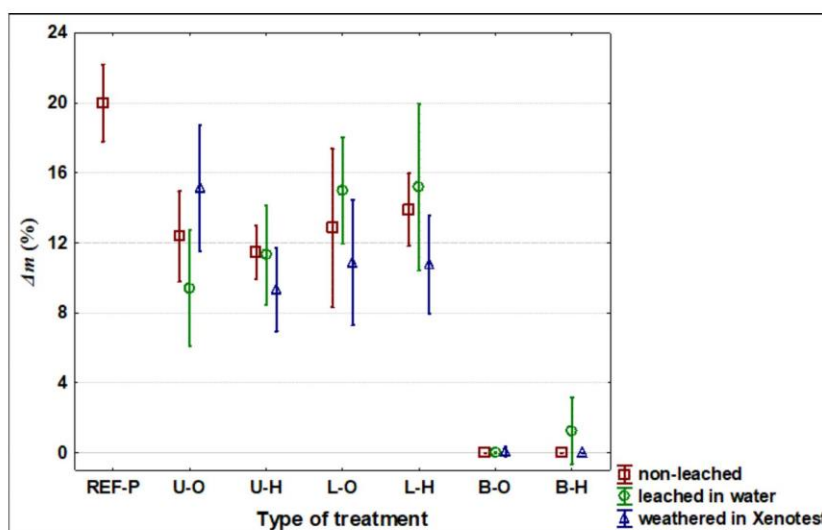


Fig. 3 Mass losses (Δm) of wood caused with the brown-rot fungus *Rhodonia placenta* after 16-weeks. Reference-the Scotch pine wood – (REF-P); Other symbols are valid for the Norway spruce wood: Untreated original – (U-O); Untreated, but with the additional hydrophobic substance – (U-H); Treated with the lavender oil – (L-O); Treated with the lavender oil and then with the hydrophobic substance (L-H); Treated with the Bochemit QB – (B-O); Treated with the Bochemit QB and then with the hydrophobic substance – (B-H).

Using of vegetable oils as a solvent medium for lavender EOs can be a sound alternative thanks to hydrophobic and repellent effect of this oil itself [52], [79], [80]. Another possibility is using only the most active substances presented in lavender EOs, natural or synthetic. Using of natural products or their derivatives as wood preservatives was shown and reviewed in more

works [46], [50], [52], [75]. Perspective seems to be mainly various extractives from cinnamon with good efficacy not only against fungi, but also against termite attack [46], [75].

3.3. Changes in surface properties

The eventual spread of lavender oil treatment depends, apart from the wood protection itself, also on the change in wood properties. The colour parameters of spruce wood (L-O) did not change due to lavender oil impregnation: $L^* = 84.22$ (SD = 2.24), $a^* = 3.43$ (SD = 1.03), $b^* = 22.92$ (SD = 1.04), compared to wood without any treatment: $L^* = 82.76$ (SD = 0.99), $a^* = 3.94$ (SD = 0.41), $b^* = 23.63$ (SD = 0.58) ($\Delta E^* = 1.70$) - note that colour changes smaller than $\Delta E^* = 3$ are not visible to man [81]. The surface characteristics of wetting with water and SFE of lavender-treated wood have significantly improved, especially due to potential use paints and/or adhesives (Table 3). Changes of this magnitude can contribute to a significant increase in the adhesion of additional coatings or glues treatment [82], [83].

Table 3.

CA° and SFE of Norway spruce wood without and with lavender treatment.

	CA _{water} °	SFE (mN.m ⁻²)	SFE Disperse (mN.m ⁻²)	SFE Polar (mN.m ⁻²)
Untreated spruce (U-O)	105.56 (15,57)	30.48 (7.45)	30.47 (7.10)	0.01 (0.36)
Lavender treated spruce (L-O)	90.02 (6.55)	47.27 (3.16)	46.88 (2.39)	0.38 (0.77)

Note: Mean values are from 8 replicates; Numbers in parentheses are SD

Water repellency effect of the hydrophobic treatment was not significantly altered after artificial aging, when CA_{water}° without aging (1st group) was 124.3° (SD=13.9°), after leaching in water (2nd group) according to EN 84 was 90.9° (SD=21.28°) and after artificial weathering in Xenotest (3rd group) was 113.15° (SD=16.98°).

The roughness of the treated samples increased slightly, due to the bending of the wood fibres after dipping in the lavender solution [84], but the change was only mild (Table 4).

Table 4.

Measured roughness of spruce wood without and with lavender treatment

Set of samples	R _a	R _z	R _{SM}	R _c
Untreated spruce (U-O)	7.30 (1.79)	51.97 (9.43)	430.77 (92.13)	31.52 (8.93)
Lavender treated spruce (L-O)	9,49 (2.48)	63.11 (12.70)	391.33 (113.93)	45.32 (9.51)

Note: Mean values are from 24 measurements; Numbers in parentheses are SD

SEM and elemental analysis showed preservation of the Si- containing hydrophobic layer in silane-siloxanes and glass particles even after artificial accelerated aging (Fig. 4), what explains the above-mentioned results on CA°water measurements (Table 3).

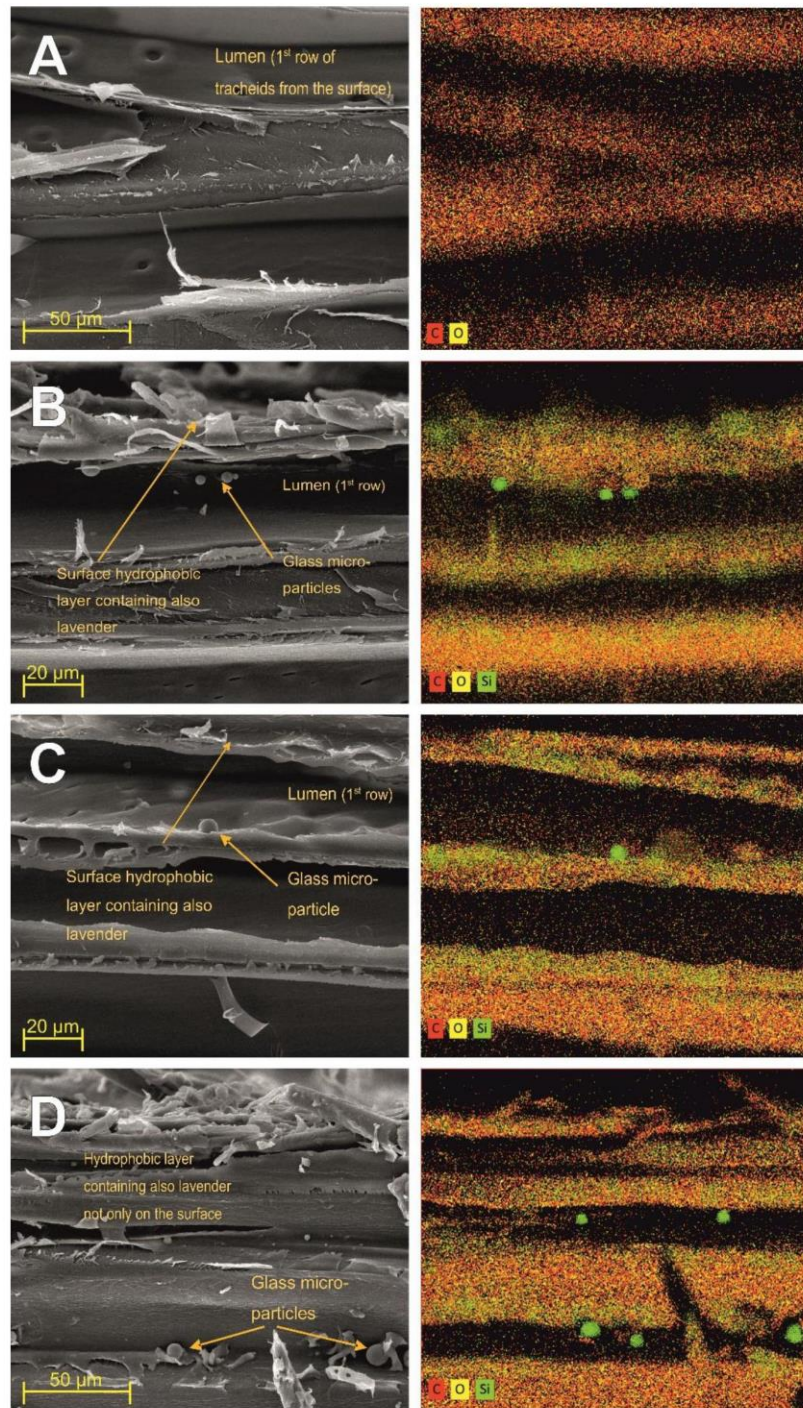


Fig. 4 SEM micrograph (left) and the elemental composition analyses focused on Si (right) of the surface layer of spruce heartwood treated with lavender oil and a hydrophobic substance. The presence of higher concentrations of silane-siloxane compounds in cell wall structure and glass micro-particles on the surface and lumen of tracheid is shown – also after accelerated aging. **A)** Lavender oil spruce wood treatment without aging and without

hydrophobic layer 7; **B**) Lavender oil treatment without aging and with hydrophobic layer; **C**) Lavender oil treatment with hydrophobic layer after leaching by water in accordance with EN 84; **D**) Lavender oil treatment with hydrophobic layer after artificial weathering in Xenotest

The treatment with lavender EO did not significantly change the spruce wood appearance and roughness, respectively. At the same time, the wettability and SFE were positively affected, what make possibility for improving the adhesion of subsequently applied coatings and adhesive layers. Our results show that while strongly diluted lavender EO is extremely effective against wood-feeding insects “termites”, only much higher concentrations might be effective for wood protection against wood-decaying fungi [52], [85]. This is an important issue when considering lavender oil use on a large industrial scale, and the cost-effectiveness and ecological impacts should be carefully weighted in the future works. Lavender EO treatment can be fully recommended as a harmless insecticide in products that come into contact with food (e.g. packing material), art objects, or for products intended for children. It can also be recommended for a short-term protection of wood or wood-based products during transport, where short-term repellence is sufficient [87]. Use as an eco-friendly sterilization agent against termite appears possible because lavender EO oil is highly volatile and the survival of termites in its presence documented in this research was very low (see Table 2). The most promising results comprise combination of lavender EO and hydrophobic treatment (Fig. 1), which substantially improve the wood durability outdoors, including protection against termites, i.e., the most important wood pests in warmer regions. It was shown that a simple technology of long-term dipping is sufficient even for the extremely difficult-to-permeate Norway spruce wood [31], which opens new avenues for applied research in wood protection.

4. Conclusions

This research showed a very high efficiency of highly-diluted (5%) lavender oil applied by simple dipping technology to protect spruce wood against attacks by *R. flavipes* termites. This is a very important finding as spruce wood belongs to the most common woods on the global scale, notoriously known for its low permeability to insecticides. The full protection can be achieved by a simple technology without expensive and sophisticated technologies, such as vacuum-overpressure. Lavender oil itself leaches from wood easily, however, the additional application of the hydrophobic treatment by a mixture of waxes, silane-siloxanes and glass microparticles in aqueous solution significantly increases the resistance of treated wood to termites, surprisingly to a degree ensured by toxic commercial insecticides. Unfortunately, used cost-wise friendly dilution of lavender oil was not sufficient to protect the wood against the brown-rot fungus *R. placenta*, irrespectively of surface hydrophobization. A colour change of spruce wood treated by lavender oil was negligible, however, a slight increase in the wood roughness accompany the treatment application. Other surface characteristics of spruce wood, such as wetting with water and surface free energy, have improved after lavender oil treatment, and this improve the adhesion of eventual applied coatings or glues.

Acknowledgements. This research was supported by grant “EVA 4.0”, No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000803 financed by OP RDE, by the project of Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-17-0583, and JŠ was supported by the Internal Grant Agency of Faculty of Tropical AgriSciences (project No. 20213112). We are grateful to Prof. David Sillam-Dussès (Université Paris 13, France) for kind provision of necessary termite material.

Conflicts of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- [1] Gérardin P (2016) New alternatives for wood preservation based on thermal and chemical modification of wood—a review. *Annals of Forest Science*, 73(3), 559-570. <https://doi.org/10.1007/s13595-015-0531-4>.
- [2] Schultz TP, Nicholas DD, McIntyre CR (2008) Recent patents and developments in biocidal wood protection systems for exterior applications. *Recent Patents on Materials Science*, 1(2), 128-134
- [3] Reinprecht L (2010) Fungicides for wood protection. World viewpoint and evaluation/testing in Slovakia. In: O. Carisse, ed. *Fungicides*. pp. 95-122 <http://www.intechopen.com/books/fungicides>
- [4] Gezer ED, Yildiz U, Yildiz S, Di E, Temiz A (2006) Removal copper, chromium and arsenic from CCA-treated yellow pine by oleic acid. *Building and Environment*, 41(3), 380-385. <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2005.02.014>.
- [5] Habicht J, Hantzschel D, Wittenzellner J (2003). Influence of different fixation and ageing procedure on the leaching behavior of copper from selected wood preservatives in laboratory trials. The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm. IRG/WP, 03-20264.
- [6] Khan BI, Solo-Gabriele HM, Townsend TG, Cai Y (2006) Release of arsenic to the environment from CCA-treated wood. 1. Leaching and speciation during service. *Environmental Science & Technology*, 40(3), 988-993. <https://doi.org/10.1021/es0514702>.
- [7] Lebow ST, Tippie M (2001). Guide for minimizing the effect of preservative-treated wood on sensitive environments. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–122. Madison, WI: US Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. 18 p., 122. <https://doi.org/10.2737/FPL-GTR-122>.
- [8] Yildiz UC, Temiz A, Gezer ED, Yildiz S (2004) Effects of the wood preservatives on mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood. *Building and Environment*, 39(9), 1071-1075. <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2004.01.032>
- [9] Temiz A, Terziev N, Jacobsen, B, & Eikenes M (2006) Weathering, water absorption, and durability of silicon, acetylated, and heat-treated wood. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(5), 4506-4513. <https://doi.org/10.1002/app.24878>.
- [10] Temiz A, Alfredsen G, Yildiz UC, Gezer ED, Kose G, Akbas S, Yildiz S (2014) Leaching and decay resistance of alder and pine wood treated with copper based wood preservatives. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 16(1), 63-76.
- [11] Townsend T, Tolaymat T, Solo-Gabriele H, Dubey B, Stook K, Wadanambi L (2004) Leaching of CCA-treated wood: implications for waste disposal. *Journal of Hazardous Materials*, 114(1-3), 75-91. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.06.025>.
- [12] Łebkowska M, Załęska-Radziwiłł M, Rutkowska-Narożniak A, Kobiela S (2003) Toxicity assessment of wood preservatives. *Environment International*, 28(8), 801-802. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00113-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00113-7).
- [13] Broda M, Mazela B, Frankowski M (2018) Durability of wood treated with aatmos and caffeine-towards the long-term carbon storage. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 20(3), 455-468. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005031501>.
- [14] Ratajczak I, Woźniak M, Kwaśniewska-Sip P, Szentner K, Cofta G, Mazela B (2018) Chemical characterization of wood treated with a formulation based on propolis, caffeine and organosilanes. *European Journal of Wood and Wood Products*, 76(2), 775-781. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1257-9>
- [15] Pánek M, Šimůnková K, Novák D, Dvořák O, Schönfelder O, Šedivka P, Kobetičová K (2020) Caffeine and TiO₂ Nanoparticles Treatment of Spruce and Beech Wood for

- Increasing Transparent Coating Resistance against UV-Radiation and Mould Attacks. *Coatings*, 10(12), 1141. <https://doi.org/10.3390/coatings10121141>.
- [16] Šimůnková K, Reinprecht L, Nábělková J, Hýsek Š, Kindl J, Borůvka V, & Pánek M (2021) Caffeine—perspective natural biocide for wood protection against decaying fungi and termites. *Journal of Cleaner Production*, 127110. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127110>.
- [17] Hill CAS (2006) *Wood Modification—Chemical, Thermal and Other Processes*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK, 239 p. ISBN 978-0-470-02172-9.
- [18] Baier J, Peklík V, Týn Z (1989) *Ochrana dřeva v bytech, chatách a chalupách*. Prague
- [19] Blanchette, R. A., 2000. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46(3), 189-204. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00077-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00077-9).
- [20] Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C (1996) Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86(349), 237-246.
- [21] Reinprecht L (2016) *Wood Deterioration, Protection, and Maintenance*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK, 357 p. ISBN 978-1-119-10653-1
- [22] Sandberg D (2016) Additives in wood products—Today and future development. In *Environmental Impacts of Traditional and Innovative Forest-based Bioproducts* (pp. 105-172). Springer, Singapore.
- [23] Singh Arora D, Jeet Kaur G, Kaur H (2009) Antibacterial activity of tea and coffee: their extracts and preparations. *International Journal of Food Properties*, 12(2), 286-294. <https://doi.org/10.1080/10942910701675928>.
- [24] Hýsek Š, Fidan H, Pánek M, Böhm M, Trgala K (2018) Water permeability of exterior wood Coatings: Waterborne acrylate dispersions for windows. *Journal of Green Building*, 13(3), 1-16. <https://doi.org/10.3992/1943-4618.13.3.1>.
- [25] Gezici-Koç Ö, Erich SJ, Huinink HP, van der Ven LG, Adan OC (2018) Understanding the influence of wood as a substrate on the permeability of coatings by NMR imaging and wet-cup. *Progress in Organic Coatings*, 114, 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2017.10.013>.
- [26] Petty JA, Preston RD (1970) Permeability and structure of the wood of Sitka spruce. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 175(1039), 149-166. <https://doi.org/10.1098/rspb.1970.0016>.
- [27] Požgaj A, Chovanec D, Kurjatko S, Babiak M (1997) *Štruktúra a vlastnosti dřeva*. Alfa Bratislava, Slovakia.
- [28] Sonderegger W, Glaunsinger M, Mannes D, Volkmer T, Niemz P (2015) Investigations into the influence of two different wood coatings on water diffusion determined by means of neutron imaging. *European Journal of Wood and Wood Products*, 73(6), 793-799. <https://doi.org/10.1007/s00107-015-0951-8>.
- [29] Kržišnik D, Lesar B, Thaler N, Humar M (2018) Performance of bark beetle damaged Norway spruce wood against water and fungal decay. *BioResources*, 13(2), 3473-3486.
- [30] Lehringer, C., 2011. Permeability improvement of Norway spruce wood with the white rot fungus *Physisporinus vitreus*.
- [31] Lehringer C, Richter K, Schwarze FW, Militz H (2009) A review on promising approaches for liquid permeability improvement in softwoods. *Wood and Fiber Science*, 41(4), 373-385.
- [32] Yildiz S, Canakci S, Yildiz UC, Ozgenc O, & Tomak ED (2012) Improving of the impregnability of refractory spruce wood by *Bacillus licheniformis* pretreatment. *BioResources*, 7(1), 0565-0577.
- [33] Pánek M, Reinprecht L, Mamoňová M (2013) *Trichoderma viride* for improving spruce wood impregnability. *BioResources*, 8(2), 1731-1746.

- [34] EN 335:2013 Durability of wood and wood-based products – Use classes: definitions, application to solid wood and wood-based products, European Committee for Standardization, Brussels
- [35] Ulyshen MD, Šobotník J (2018) An introduction to the diversity, ecology, and conservation of saproxylic insects. In *Saproxylic Insects* (pp. 1-47). Springer, Cham.
- [36] Schmidt O (2006) *Wood and Tree Fungi*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 334 p.
- [37] Šefců O, Pacáková M, Vinař J (2000) *Metodika ochrany dřeva*. Státní ústav památkové péče.
- [38] Buczkowski G, Bertelsmeier C (2017) Invasive termites in a changing climate: A global perspective. *Ecology and Evolution*, 7(3), 974-985. <https://doi.org/10.1002/ece3.2674>.
- [39] Holt JA, Lepage M (2000) Termites and soil properties. *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology*, 389-407.
- [40] Evans TA, Forschler BT, Grace JK (2013) Biology of invasive termites: a worldwide review. *Annual Review of Entomology*, 58. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153554>.
- [41] Su NY (2019) Development of baits for population management of subterranean termites. *Annual Review of Entomology*, 64, 115-130. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-112429>
- [42] Donovan SE, Eggleton P, Dubbin WE, Batchelder M, & Dibog L (2001) The effect of a soil-feeding termite, *Cubitermes fungifaber* (Isoptera: Termitidae) on soil properties: termites may be an important source of soil microhabitat heterogeneity in tropical forests. *Pedobiologia*, 45(1), 1-11. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00063>
- [43] Bourguignon T, Šobotník JAN, Lepoint G, Martin JM, Hardy OJ, Dejean A, Roisin Y (2011) Feeding ecology and phylogenetic structure of a complex neotropical termite assemblage, revealed by nitrogen stable isotope ratios. *Ecological Entomology*, 36(2), 261-269. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01265.x>
- [44] Su NY, La Fage JP (1984) Differences in survival and feeding activity among colonies of the Formosan subterranean termite (Isoptera, Rhinotermitidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 97(1-5), 134-138. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1984.tb03728.x>
- [45] Chaudhari AK, Singh VK, Kedia A, Das S, Dubey NK (2021) Essential oils and their bioactive compounds as eco-friendly novel green pesticides for management of storage insects pests; prospects and retrospects. *Environmental Science and Pollution Research* 28(15), 18918-18940. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12841-w>.
- [46] Singh T, Singh AP (2012) A review on natural products as wood protectant. *Wood Sci. Technol.* 46, 851-870. <https://doi.org/10.1007/s00226-011-0448-5>.
- [47] Vranová E, Coman D, Gruissem W (2012) Structure and dynamics of the isoprenoid pathway network. *Molecular Plant*, 5(2), 318-333. <https://doi.org/10.1093/mp/sss015>.
- [48] Holley RA, Patel D (2005) Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273-292. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.08.006>.
- [49] Kalembe DAAK, Kunicka A (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>.
- [50] Pánek M, Reinprecht L, Hulla M (2014) Ten essential oils for beech wood protection- Efficacy against wood-destroying fungi and moulds, and effect on wood discoloration. *BioResources*, 9(3), 5588-5603.
- [51] Voda K, Boh B, Vrtačnik M, Pohleven F (2003) Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and

- the brown-rot *Coniophora puteana*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51(1), 51-59. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00075-6](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00075-6).
- [52] Bahmani M, Schmidt O (2018) Plant essential oils for environment-friendly protection of wood objects against fungi. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 20(3), 325-332. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005003301>.
- [53] Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S (2008) Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166-2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>.
- [54] Xie Y, Wang Z, Huang Q, & Zhang D (2017) Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, 108, 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>
- [55] Koul O, Walia S, Dhaliwal GS (2008) Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*, 4(1), 63-84.
- [56] Lizarraga-Valderrama LR (2021) Effects of essential oils on central nervous system: Focus on mental health. *Phytotherapy Research*, 35(2), 657-679. <https://doi.org/10.1002/ptr.6854>.
- [57] Pavela R, Benelli G (2016) Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000-1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>.
- [58] Erland LA, Mahmoud SS (2016) Lavender (*Lavandula angustifolia*) oils. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, 501-508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00057-2>.
- [59] Cavanagh HTT, Wilkinson JT (2002) Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308. <https://doi.org/10.1002/ptr.1103>.
- [60] Evandri MG, Battinelli L, Daniele C, Mastrangelo S, Bolle P, Mazzanti G (2005) The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology*, 43(9), 1381-1387. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.03.013>.
- [61] Field T, Diego M, Hernandez-Reif M, Cisneros W, Feijo L, Vera Y, et al (2005) Lavender fragrance cleansing gel effects on relaxation. *International Journal of Neuroscience*, 115(2), 207-222. <https://doi.org/10.1080/00207450590519175>.
- [62] Sabara D, Kunicka-Styczyńska A (2009) Lavender oil—flavouring or active cosmetic ingredient. *Scientific Bulletin of the Technical University of Lodz*, 78, 33-41.
- [63] Wells R, Truong F, Adal AM, Sarker LS, Mahmoud SS (2018) *Lavandula* essential oils: a current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications*, 13(10), 1934578X1801301038. <https://doi.org/10.1177%2F1934578X1801301038>.
- [64] Woronuk G, Demissie Z, Rheault M, Mahmoud S (2011) Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica*, 77(01), 7-15. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1250136>.
- [65] Cassella S, Cassella JP, Smith I (2002) Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *International Journal of Aromatherapy*, 12(1), 2-15. <https://doi.org/10.1054/ijar.2001.0127>.
- [66] EN 113:1996. Wood preservatives - Test method for determining the protective effectiveness against wood destroying basidiomycetes. Determination of the toxic values, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 28.
- [67] EN 118:2013. Wood preservatives – Determination of preventive action against *Reticulitermes* species (European termites) (Laboratory method), European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 22.

- [68] EN 84:1997. Wood preservatives – Accelerated ageing of treated wood prior to biological testing – Leaching procedure, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 10.
- [69] EN 927-6:2018. Paints and Varnishes. Part 6: Exposure of Wood Coatings to Artificial Weathering Using Fluorescent UV Lamps and Water, In *Coating Materials and Coating Systems for Exterior Wood*, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 27.
- [70] Stearns EI (1986) Colorimetry. 2nd ed., Commission Internationale de l’Eclairage, Vienna, Austria. p. 74.
- [71] Petrič M, Oven P (2015) Determination of wettability of wood and its significance in wood science and technology: A Critical Review. *Reviews of Adhesion and Adhesives* 3, 121-187. ISSN 2168-0973. <https://doi.org/10.7569/RAA.2015.097304>.
- [72] EN ISO 4287. 1997. Geometrical product specifications (GPS). Surface texture. Profile method. Terms, definitions and surface texture parameters. International Organization for Standardization, Geneva.
- [73] EN ISO 4288. 1996. Geometrical product specifications (GPS). Surface texture. Profile method. Rules and procedures for the assessment of surface texture. International Organization for Standardization, Geneva.
- [74] Kartal SN, Katsumata N, Imamura Y, Tsuchiya F, Ohsato K (2004) Preliminary evaluation of fungicidal and termiticidal activities of hydrolysates from biomass slurry fuel production from wood. In *Proceedings of ICECFOP1–1 st International Conference on Environmentally-Compatible Forest Products* (p. 195).
- [75] Kartal SN, Hwang WJ, Imamura Y, Sekine Y (2006) Effect of essential oil compounds and plant extracts on decay and termite resistance of wood. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 64(6), 455-461. <https://doi.org/10.1007/s00107-006-0098-8>.
- [76] Kang MG, Jee CH (2012) Repellent effect of camomile and lavender essential oils against house dust mite in bed fabric. *Journal of Biomedical Research*, 13(1), 21-26.
- [77] Ikeura H, Kobayashi F, Hayata Y (2012) Repellent effect of herb extracts on the population of wingless green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Agricultural Science*, 4(5), 139-144. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v4n5p139>.
- [78] Sen S, Yalcin M (2010) Activity of commercial still waters from volatile oils production against wood decay fungi. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 12(2), 127-133. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2010000200007>.
- [79] Humar M, Lesar B (2013) Efficacy of linseed and tung oil treated wood against wood-decaying fungi and water uptake. *International Biodeterioration and Biodegradation* 85, 223-227. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.07.011>.
- [80] Schwarzkopf M, Burnard M, Tverezovskiy V, Andreas Treu A, Humar M, Kutnar A (2018) Utilisation of chemically modified lampante oil for wood protection. *European Journal of Wood and Wood Products* 76:1471–1482. <https://doi.org/10.1007/s00107-018-1336-6>.
- [81] Oltean L, Teischinger A, Hansmann C (2008) Wood surface discolouration due to simulated indoor sunlight exposure. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 66(1), 51. <https://doi.org/10.1007/s00107-007-0201-9>.
- [82] Pizzi A, Mittal KL (2011) *Wood Adhesives* Hardcover. CRC Press, 1st ed., p. 462. ISBN 978-9004190931.
- [83] De Meijer M (2005) A review of interfacial aspects in wood coatings: wetting, surface energy, substrate penetration and adhesion. COST E18 Final Seminar, p. 16. <https://www.researchgate.net/publication/260601859>.

- [84] Evans PD, Cullis I, Kim JDW, Leung LH, Hazneza S, Heady RD (2017) Microstructure and mechanism of grain raising in wood. *Coatings*, 7, 135. <https://doi.org/10.3390/coatings7090135>.
- [85] Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M (1995) Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2384-2388.
- [86] Cook SM, Jönsson M, Skellern MP, Murray DA, Anderson P, Powell W (2007) Responses of Phradis parasitoids to volatiles of lavender, *Lavendula angustifolia*—a possible repellent for their host, *Meligethes aeneus*. *BioControl*, 52(5), 591-598. <https://doi.org/10.1007/s10526-006-9057-x>.
- [87] Jaenson TG, Garboui S, Pålsson K (2006) Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent MyggA natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *Journal of Medical Entomology*, 43(4), 731-736. <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.4.731>.

5 DISKUZE

Řada výzev se objevila s potřebou objevit ekologičtější ochranu dřeva než je ochrana založená na chemických látkách, která je sice účinná v ochraně dřeva, ale její dopady na životní prostředí nejsou dobré. Tato problematika je předmětem rozsáhlých výzkumů, které se zabývají objevením látky s ideálními vlastnostmi, které budou účinné v ochraně dřeva, jejich výdrž ve dřevě bude dostatečná, nebudou zatěžovat planetu a zároveň budou finančně dostupné.

Účinnost kofeinu jako fungicidu a insekticidu přírodního původu

Kofein – ekologická varianta ochrany dřeva

Kofein (1, 3, 7-trimethylxanthine) je přirozeně se vyskytující alkaloid, který lze nalézt u více jak 60 rostlin v různém množství v semenech, listech a plodech (Heckman a kol., 2010). Běžnými zdroji jsou pak například kakaové boby (*Theobroma cacao*) (Peláez a kol., 2016; Scapagnini a kol., 2014; Smit a Blackburn, 2005), káva (*Coffea arabica*, *Coffea robusta*) (Almeida a kol., 2006; Perrois a kol., 2015), čajové listy (*Camellia sinensis*) (Arora a kol., 2009; Si a kol., 2006), kolové oříšky (*Cola nitida*) (Lowor, 2008), plody guarany (*Paullinia cupana*) (Majhenič a kol., 2007) a Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) (Bastos a kol., 2007; Schmalko a kol., 2001). Kofein je buď vyráběn synteticky, nebo může být získáván z přírodních zdrojů, například jako odpad při výrobě čaje a kávy (Allen, 1961; Chowdhury a kol., 2016; Senol a Aydin, 2006; Serdar a kol., 2017; Shalmashi a kol., 2010; Weinkauff a kol., 1961). Kofein je často studovaná biocidní látka (Arora a Ohlan, 1997; Ashihara a kol., 2008; Friedman, 2007; Lekounougou a kol., 2007; Majhenič a kol., 2007; Mohammed a Al-Bayati, 2009; Rahman a kol., 2014). Nathanson s kol. (1984) provedli jeden z prvních výzkumů zaměřených na kofein a jeho pesticidní účinky. Zkoumali účinek methylxantinů, které mohou fungovat buď samotné, nebo v kombinaci s jinými sloučeninami, jako insekticid. V následujících letech byla testována účinnost kofeinu například proti roztočům (Russell a kol., 1991), zemědělským škůdcům (Bieri a kol., 1989; Hollingsworth a kol., 2002; Khoshraftar a kol., 2019; Klein a kol., 2020; Simms a Wilson, 2002) a pavoukům (Hesselberg a Vollrath, 2004).

S celosvětově vysokou spotřebou kávy je problém s kávovým odpadem, který při vyhození do přírody může představovat riziko pro zdraví lidí a životní prostředí (Fernandes a kol., 2017; Leifa a kol., 2000). Je proto důležité, najít způsob, kterým lze tyto zbytky využít. Byly také provedeny výzkumy na vliv kofeinu na lidské zdraví jak jeho užíváním vnitřně (Cannon a kol., 2001; Song a kol., 2012; Van Dam a kol., 2020), tak zevně (Sharifian a kol., 2016; Van de Sandt a kol., 2004). Kaplan a kol. (1978) zjistili, že hydrokortison s přísadkou kofeinu má příznivý účinek při léčbě atopické dermatitidy. Kofein je také používán v kosmetice pro svou schopnost dobře pronikat do kožních bariér a zároveň v šamponech pro jeho schopnost snižovat napětí hladkého vlasového svalstva a vede tak k snadnějšímu dodávání živin krevními cévami (Sharifian a kol., 2016). Úprava dřeva kofeinem by proto neměla být při dotyku zdraví škodlivá.

Zároveň by bylo možné kofein použít k úpravě dřevěných obalů na potraviny, protože kofein není škodlivý při styku s potravinami. V ochraně proti plísním se sice nevyrovná komerčně dostupným přípravkům, ale jeho velkým plusem je bezpečnost pro životní prostředí a zdravotní neškodlivost (Kwaśniewska-Sip a kol., 2018).

Testování kofeinu jako fungicidu na živných půdách

Methylxantiny jsou alkaloidy přírodního původu, které rostliny produkují pro ochranu vůči škůdcům – hmyzu a plísním. Námi testovaný zástupce, kofein, degraduje na teofylin a teobromin (Hakil a kol., 1999). Jsou využívány jako léčiva, teofylin je používán k léčbě astmatu (Tilley, 2011). Podle review Broda (2020) jsou methylxantiny látky perspektivní pro ochranu dřeva vůči biopoškození, zejména díky dostupnosti, dostatečné účinnosti a aplikovatelnosti do dřeva ve formě vodního roztoku. Byla prokázána schopnost methylantinů na testech *in vitro* inhibovat houbové chitinázy, které jsou nezbytné pro remodelaci jejich buněčných stěn, a tím pádem mají antifungální vlastnosti (Tsirilakis a kol., 2012). Bylo prokázáno, že kofein vyvolává alteraci buněčné stěny u hub (Maraqa a kol., 2007; Lekounougou a kol., 2008). Zároveň bylo prokázáno, že kofein inhibuje produkci aflotoxinů (Buchanan a kol., 1983).

Ve výzkumu Kobetičová a kol. (2020a – součást DSP) proběhly mykologické testy odolnosti kofeinu a jeho produktů degradace, teofylinu a teobrominu. Tyto dvě látky dosud nebyly v žádném výzkumu podrobně testovány jako fungicidní látka proti dřevokazným houbám. Teofylin vykazoval účinnost v ochraně proti testovaným houbám, stejně jako kofein. Ke stejným výsledkům s kofeinem v živné půdě došli i Lekounougou a kol. (2007), kteří testovali jeho účinnost vůči houbám *Poria placenta* a *Phanerochaete chrysosporium*. Rao a kol. (2005) došli ke stejným výsledkům, když porovnali toxicitu kofeinu a teofylinu. Byla zjištěna nižší citlivost ligninových hub na kofein, což může být vysvětleno odlišným enzymatickým aparátem těchto hub (Reinprecht, 2016). Ve více pracích byla dokladována jejich nižší citlivost vůči látkám přírodního původu (Pánek a kol., 2014). Nízká účinnost teobrominu může být vysvětlena také jeho nízkou stabilitou. Oduro-Mensah a kol., 2018 dokonce zjistili, že je možnost využít houbu *Aspergillus niger* k degradaci teobrominu, nacházejícího se ve slupkách kakaových bobů. Antifungální vlastnost methylxantinů byla připsána také jejich lipofilní vlastnostem, které jsou nejvyšší u kofeinu. Účinnost kofeinu vůči dřevokazným houbám na metodou otrávené živné půdy prokázaly i práce Arorra a Ohlan (1997) a Barbero-López a kol. (2018). V návaznosti na výše citované práce je nutné ověřit účinnost kofeinu také na ošetřeném dřevě.

Testování odolnosti hub a plísní na dřevu upraveném kofeinem

Na dřevo v exteriérových aplikacích působí řada abiotických a biotických činitelů (Cogulet a kol., 2017; Marais a kol., 2020). Dřevo je prakticky neustále vystaveno riziku napadení houbami, které jsou díky sporům všudypřítomné (Hallenberg a Kúffer, 2001) a hmyzu. Jedním z možných způsobů ochrany jsou nátěrové systémy, které „uzavřou“ povrch dřeva, což zabrání přístupu spor do

dřeva. Bohužel dochází k působení vnějších vlivů, jako je UV záření, působení teplot a dalších abiotických faktorů, které přispívají k degradaci povrchu, ve kterém se následně usazují prachové částice společně se spory hub, které následně čekají na ideální podmínky k jejich růstu (Lie a kol., 2019; Tolvaj a kol., 2011). Úkolem modifikační ochrany dřeva je zamezit vzniku těchto podmínek nebo následná inhibice růstu biotických činitelů. Dřevokazné houby produkují enzymy, které způsobují destrukci složek dřeva (Goodell a kol., 2020; Kirk a Cullen. 1998). Bylo prokázáno, že kofein způsobuje zpomalení aktivity chitináz, což vede k inhibici růstu hub (Kwaśniewska-Sip a kol., 2018).

Existují různé metody testování odolnosti dřeva proti dřevokazným houbám a plísním (Edlund a Nilsson, 1998; Gobakken a kol., 2010; Imken a kol., 2020; Myronycheva a kol., 2018). V experimentu Šimůnková a kol. (2021 – součást DSP) byla testována účinnost kofeinu v 2% koncentraci, tedy maximální možné koncentraci, které je možné dosáhnout rozpuštěním kofeinu v destilované vodě. Dřevo bylo kofeinem chráněno proti houbě *Rhodonía placenta* jen v dřevu bez následného testu vyplavení. Pánek a kol. (2021 – součást DSP) následně potvrdili inhibiční účinek i proti dřevozbarvující houbě *Sclerophoma pithyophila* a vybraným druhům plísní. Zároveň byl v této práci potvrzen i vliv ošetřeného dřeva a také koncentrace roztoku kofeinu. Dostatečná byla pouze 2% koncentrace a nejodolnější bylo dřevo smrku, běl borovice s bukem byly méně odolné. V práci Pánek a kol. (2020 – součást DSP) byla testována dodatečná aplikace vrchní vrstvy olejového a akrylátového nátěru, které by zabránily vyplavení kofeinu ze dřeva. Byla prokázána zvýšená účinnost této úpravy vůči plísním, zároveň byla zvýšena celková životnost akrylátového nátěru na smrkovém a bukovém dřevě během umělého urychleného stárnutí v UV-komoře s postřikem (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). Ve výzkumu Kwaśniewska-Sip a kol. (2018) byl kofein použit v různých koncentracích (4 až 25 g.l⁻¹). U všech hub byla u upravených vzorků pozorována inhibice růstu a zároveň byl pozorován velký účinek proti houbě *Trametes versicolor*. Při vyšších koncentracích byla docílena úplné inhibice u plísní *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium cyclopium*, *P. funiculosum*, *Trichoderma viride*.

Testovány byly i možnosti kombinovaných úprav dřeva s použitím kofeinu. Cofta a kol. (2018) zkombinoval úpravu kofeinem s přípravkem na bázi mědi. V komerční ochraně je měď běžně používaná, nevýhodou však je její toxicita vůči vodním organismům (Treu a kol., 2009). Kwaśniewska a kol. (2018) prokázala pozitivní efekt kofeinu v kombinaci s termickou úpravou dřeva, avšak je nutné počítat, že termická úprava negativně ovlivňuje mechanické vlastnosti dřeva. Kofein prokázal, že dokáže účinně chránit dřevo vůči ataku dřevokazných hub. Je tudíž potenciálně účinným fungicidem, který dokáže v určitých aplikacích nahradit komerční v současné době používané fungicidy.

Insekticidní schopnost kofeinu

Methylxantiny dokáží v množství obsaženém v rostlinách inhibovat aktivitu fosfodiesterázy a zvýšit intercelulární cyklický adenosinmonofosfát. V menších množstvích pak mohou být synergisty jiných pesticidů, které dokáží aktivovat adenylancyklázu hmyzu (Nathanson, 1984). Termiti hrají důležitou roli v ekologii, kdy jejich role spočívá v recyklaci odumřelého organického materiálu (Bignell, 2018). Toto ale hraje v neprospěch dřevěných konstrukcí. Termiti potřebují vodu a jsou proto více přitahováni dřevem, které poskytuje zároveň vhodné podmínky pro růst hnilobných hub a plísní (Clausen a Yang, 2007).

V případě použití starších metod ošetření dřeva (Gescón-Garrido a kol., 2013) v testech účinnosti proti termitům vykazovaly vzorky upravené acetylací a DMDHEU vynikající odolnost proti termitům. Ve výzkumu Šimůnková a kol. (2021 – součást DSP) byla testována schopnost kofeinu ochránit dřevo smrku před napadením termity. Tento výzkum je první svého druhu, kdy je testována účinnost této látky aplikované ve formě roztoku do dřeva vůči termitům. Dřevo bylo před termity chráněno pouze v případě, když nebyly použity testy vyplavení nebo umělého urychleného stárnutí. Aplikace vrchní hydrofobní vrstvy na bázi vosků a sloučenin na bázi silanolů také nedokázalo zabránit vyplavení malých molekul kofeinu z vrchních vrstev ošetřeného smrkového dřeva. To predikuje, že s úspěchem je možné tuto variantu ochrany použít pouze pro dřevo náhodně vystavené povětrnosti anebo kondenzaci (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP). Araque a kol. (2007) provedli výzkum na insekticidní vlastnosti kofeinu proti octomilce obecné (*Drosophila melanogaster*) a zavíječi kávovém (*Hypothenemus hampei*), kdy emulze kofeinu měla vysokou biologickou aktivitu. Další výzkumy jsou pak zaměřeny na ochranu kávové rostliny pomocí obsaženého kofeinu proti škůdcům (Guerreiro Filho a Mazzafera, 2000, 2003). Dle výše citovaných prací je možné konstatovat, že kofein je účinným insekticidem. Po potvrzení jeho účinnosti ve dřevě vůči ataku velmi nebezpečných termitů (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP) lze očekávat, že může být účinný také vůči dřevokazným broukům anebo blanokřídlému hmyzu. Zejména tesařík krovový a červotoči jsou významnými škůdci zabudovaného dřeva v Evropě (Reinprecht, 2016). Tuto účinnost však bude potřeba, před praktickým použitím v konstrukcích, ověřit standardizovanými testy v laboratorních podmínkách.

Nedostatečná vazba kofeinu na dřevo

Výhodou kofeinu při jeho aplikaci je jednoduchost přípravy, která zahrnuje jen rozmíchání kofeinového prášku ve vodě. Tato skutečnost ale bohužel souvisí i s nevýhodou - vyplavitelností. Stejně jako extraktiva (González-Lorenzo a kol., 2015) a taniny je kofein ze dřeva snadno vyplavitelný vodou (Kwaśniewska-Sip a kol., 2019). Ochranné prostředky na vodní bázi se obvykle ze dřeva snadno vyplavují. Jde o velký problém, kvůli kterému se s postupem času snižuje ochranná schopnost látek vyplavitelných ze dřeva. Proto je důležité zkoumat nové způsoby, jak je stabilizovat, aby se zlepšila trvanlivost dřeva v exteriéru

a zároveň byla zachována šetrnost k životnímu prostředí (Li a kol., 2011; Thaler a kol., 2012). Zadržení organických látek přírodního původu a celkově biocidních účinných látek ve dřevě je proto jednou z největších výzev výzkumu zaměřeného na ochranu dřeva vůči bio-poškození (Chittenden a Singh, 2011).

Kwaśniewska-Sip a kol. (2021) se věnovala chemickým změnám způsobeným interakcí kofeinu v ligninocelulózovém materiálu. Byla zjištěna možná kladná interakce kofeinu s ligninem. Kobetičová a kol. (2021c) prokázala, že kofein se váže na různé složky dřeva různým způsobem. Existují i odlišnosti vazby u různých druhů dřeva dle jejich základních chemických komponent a podílů (Kobetičová a kol., 2021c, 2021b).

Na rozdíl od ostatních výzkumů (Broda a kol., 2018; Kwaśniewska-Sip a kol., 2018; Ratajczak a kol., 2018), kde byl k impregnaci použit vakuový způsob, bylo v Šimůnková a kol. (2021 – součást DSP), Pánek a kol. (2021 – součást DSP), a Pánek a kol. (2020 – součást DSP) k impregnaci dřeva použito pouze dlouhodobé máčení. Zároveň pak bylo testováno dřevo smrku (*Picea abies*), které je jednou z nevýznamnějších dřevin v Evropě, často používanou v komerční aplikaci (Thaler a kol., 2012). Je známé pro svou malou propustnost a tedy i velmi špatnou impregnovatelnost (EN 350-2, 1994; Pánek a Reinprecht, 2008). I přes tuto skutečnost se podařilo máčením testovanou látku dostat v dostatečném množství do povrchových vrstev tak, že byl účinek ochrany dostatečný (Pánek a kol., 2021 – součást DSP). K následné simulaci stárnutí byly využity metody vyplavení podle EN 84 a umělého stárnutí v Xenotestu podle EN 927-6 (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP), ve výzkumu Pánek a kol. (2020 – součást DSP) byla k urychlení stárnutí použita UV komora podle EN 927-6. Kwaśniewska-Sip (2021) popisuje výrazný vliv stárnutí a s tím souvisejícího vyplavení, které způsobuje odplavení kofeinu ze dřeva. Dále posuzuje nízkou penetraci kofeinu do dřeva, kdy se kofein hromadí v povrchových vrstvách, což opět napomáhá snadnějšímu vyplavení. V Šimůnková a kol. (2021 – součást DSP) došlo k zásadním rozdílům odolnosti upraveného dřeva proti termitům *Reticulitermes flavipes* a houbě *Poria placenta* před a po vyplavení podle EN 84. Ke stejným výsledkům došla i Ratajczak a kol. (2018), která testovala odolnost dřeva proti *Coniophora puteana*. Kwaśniewska a kol. (2019) testující kombinaci kofeinu a tepelné úpravy, zjistili, že následná tepelná úprava snížila vyplavení kofeinu, ale zároveň zachovala jeho fungicidní účinnost.

Technika, která by mohla ochránit dřevo proti vyplavení účinných látek, může být společná impregnace s hydrofobní látkou (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP; Schultz a kol., 2006). V práci Šimůnková a kol., (2021 – součást DSP) se však prokázalo, že malé molekuly kofeinu pronikají přes vrchní vrstvu hydrofobního nátěru a účinnost ochrany vůči biopoškození se ztratila. Proto byly v dalším kroku testovány interakce mezi impregnačním kofeinem a silnovrstevnými nátěry, které by účinně zabránili jeho vyplavení ze dřeva (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). Úprava kofeinem zvyšuje volnou povrchovou energii dřeva a tím zlepšuje adhezi nátěru (Šimůnková a kol., 2020 – příloha DSP). Během testů umělým stárnutím byl potvrzen pozitivní vliv na životnost akrylátového

exteriérového nátěru a efekt vůči růstu plísní na povrchu nátěrového filmu (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). Vyplavování by zároveň mohla zabránit úprava maleinovou kalafunou (Yang a kol., 2018). Další variantou k zlepšení stability kofeinu ve dřevě je zapouzdření ochranných látek (Cai a kol., 2020; Sørensen a kol., 2010), které je ale nutné dále zkoumat. Je známo, že spojení aktivní složky s nanonosičem zlepšuje její stabilitu a chrání ji před vnějšími faktory. U kofeinu však je využití této technologie otázné (Artusio a kol., 2019).

Vliv na fyzikální a mechanické vlastnosti

V případě ochrany dřeva proti houbám a hmyzu je také potřeba se zaměřit na ostatní parametry, které tato ochrana může ovlivnit. Tyto informace jsou pak důležité především v místech, kde má být dřevo použito jako nosný materiál (Epmeier a kol., 2007). Omezení použití pak nastává, jakmile jsou jakkoliv podstatně sníženy mechanické vlastnosti modifikovaného dřeva (Kretschmann, 2010). Xie a kol. (2013) popisuje, že u termicky upraveného dřeva dochází na úkor zlepšení trvanlivosti dřeva ke snížení jeho mechanických vlastností, jako je pevnost v ohybu, tlaku a rázová houževnatost. Stejně tak mohou být mechanické vlastnosti zhoršeny zesíťováním mezi chemickými látkami a polymery buněčných stěn. Neméně důležitý je i vzhled dřeva, u kterého může být během modifikace změněna jeho barva a lesk. Tato změna pak může být nevíтанá z estetického hlediska. U tepelné úpravy dřevo tmavne (Barčík a kol., 2015; Esteves a Pereira, 2009; Hřčková a kol., 2018; Sikora a kol., 2018) a ztrácí lesk (Aksoy a kol., 2011).

V Šimůnková a kol. (2021 – součást DSP) byl testován vliv úpravy roztokem kofeinu na mechanické vlastnosti, kdy nebyly zaznamenány žádné negativní vlivy na pevnost v tlaku smrkového dřeva. Stejně tak neměla úprava výrazný vliv na změnu barvy, což je v souladu s prací Kwaśniewska-Sip a kol. (2018), která také popsala, že kofein nemění vizuální vlastnosti dřeva. V práci Pánek a kol., (2021 – součást DSP) byl hodnocen vliv úpravy roztokem kofeinu na vybrané fyzikální a mechanické vlastnosti dřev smrku, buku a běle borovice. Dle očekávání, vlastnosti dřeva nebyly statisticky významně ovlivněny touto úpravou. V některých případech byl pozorován mírný, avšak ne statisticky významný, pokles ohybové pevnosti. Je známo, že ohybová pevnost výrazně reaguje na jakékoliv poškození struktury dřeva (Reinprecht, 2016, Tsuomis, 1991, Hill, 2006). Společně s mírným poklesem objemového sesychání to lze připsat máčení ve vodě, podobně jako ve vodném roztoku kofeinu, které vede k vyplavení vodou vyplavitelných extraktivních látek (Bodig a Jayne, 1982), a také tvorbou mikroskopických trhlin během následného sušení (Hon a Shiraishi, 2000). V práci Pánek a kol. (2021 – součást DSP) bylo potvrzeno, že voda měla stejný efekt jako máčení ve vodním roztoku kofeinu, tudíž lze vyloučit nepříznivý efekt kofeinu na změnu vlastností dřeva. Pouze u bukového dřeva došlo k lehce výraznějšímu poklesu pevnosti, lze to připsat výrazně odlišné struktuře dřeva a průběhu transportních procesů v jeho dřevě (Borůvka a kol., 2020, Siau, 1984, Skaar, 1988). Celkově lze konstatovat, že v této práci byl poprvé důkladně prozkoumán vliv roztoku kofeinu na změny pevnosti dřeva.

Potvrzení, že nemá výraznější negativní dopad, poskytuje možnost využití ošetřeného dřeva také pro nosné účely.

Účinnost levandule jako fungicidu a insekticidu přírodního původu

Esenciální oleje a levandule

Esenciální oleje se jeví jako perspektivní ekologická varianta ochrany (Regnault-Roger, 1997). V poslední době kvůli tomu rychle stoupá zájem o využití esenciálních olejů jako biocidů (Antonelli a kol., 2020; Macías a kol., 2005; Palla a kol., 2020). Byla provedena řada studií, které testovaly účinnost esenciálních olejů jako prostředků k ochraně dřeva (Bahmani a Schmidt, 2018; Chittenden a Singh, 2011; Kartal a kol., 2006; Mohareb a kol., 2013; Moutaouafiq a kol., 2019; Pánek a kol., 2014; Voda a kol., 2003; Xie a kol., 2017). Esenciální oleje lze získat z řady rostlin, které jsou těmito látkami chráněny proti případnému napadení bakteriemi nebo houbami. Hlavními složkami esenciálních olejů jsou terpeny, mezi nimi alkoholy, aldehydy, uhlovodíky, étery a ketony (Guimarães a kol., 2019).

Levandule je rostlina původem ze Středomoří, Arabského poloostrova, Ruska a Afriky, dnes je ale pěstována po celém světě (Özcan a kol., 2018). Oleje z květů levandule mají široké použití od kosmetiky, aromaterapie, léčitelství po potravinářství (Denner, 2009; Da Porto a kol., 2009; Erland a Mahmoud, 2016; Śmigielski a kol., 2008). Levandulový esenciální olej je antibakteriální, protiplísňový, sedativní, antidepresivní a zároveň účinný při popálení a bodnutí hmyzem (Cavanagh a Wilkinson, 2002).

Mezi doposud testovanými esenciálními oleji prokázaly oleje z tymiánu, anýzu, oregana, hřebíčku, puškvorce, koptského kmínu, zederachu indického, badilu horského a hřebíčku byly účinné proti vybraným dřevokazným houbám a plísním (Hussain a kol., 2013; Matan a Matan, 2008; Pánek a kol., 2014; Pop a kol., 2019; Yang a Clausen, 2007). Esenciální oleje z citrusů je možné použít jako pesticidy proti hmyzu a houbám (Macías a kol., 2005), stejně tak skořicový olej je funkční proti plísním, bakteriím a termitům (Hu a kol., 2021; Cheng a kol., 2006, 2008; Lin a kol., 2007, 2020; Maoz a kol., 2007; Wang a kol., 2005). Levandule má také tuto velkou výhodu, kterou je kombinace jejich fungicidních (Bartynska a Budzikur-Ramza, 2001; Erdoğan a kol., 2016; Inouye a kol., 2006) a zároveň insekticidních vlastností (Al-Harbi a kol., 2021; Cossetin a kol., 2018; Sajfrtova a kol., 2009). Reinprech a Vidholdová (2017) dosáhli zlepšení ochrany dřeva upraveného nanočásticemi ZnO, po nichž byla ochrana relativně nízká, pomocí esenciálních olejů z oregana a hřebíčku.

Testy na půdách, dřevě

Jedny z prvních výzkumů na účinnost esenciálního oleje z levandule na ochranu dřeva provedli Pánek a kol. (2014) a Bahmani a Schmidt (2018). Výsledky Pánek a kol. (2014) prokázaly účinnost 10% etanolového roztoku esenciálního levandulového oleje, který 100% inhiboval růst hub *Tremes versicolor* a *Aspergillus niger*. Bahmani a Schmidt (2018) pak toto potvrdili.

Levandulový esenciální olej v 10% koncentraci v olivovém oleji v jejich případě inhiboval růst *Aspergillus niger* a *Penicillium commune*. Ve výzkumu Šimůnková a kol. (2022 – součást DSP) byla použita pouze 5% koncentrace etanolového roztoku esenciálního oleje z levandule, což nevedlo ke zvýšení odolnosti proti houbě *Rhodonía placenta*. Stejná koncentrace ale byla použita zároveň proti termitům *Reticulitermes flavipes*, kde byly prokázány insekticidní vlastnosti levandule. Tyto insekticidní a zároveň fungicidní vlastnosti bývají připsány linaloolu, linalyl acetátu, 1,8-Cineolu, kafru, borneolu, lavandulyl acetátu (Rozman a kol., 2006, 2007; Soković a Van Griensven, 2006, Yoon a kol., 2011).

Vzájemné porovnání kofeinu a levandulového esenciálního oleje

Srovnání s jinými přírodními látkami

Kofein je odpadní látkou při výrobě kávy a čaje, lze jej také poměrně levně syntetizovat. Díky jejím insekticidním a fungicidním vlastnostem má kofein velký potenciál v ochraně dřeva (Kobetičová a kol., 2021b; Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP; Kwaśniewska-Sip a kol., 2018). Jeho nevýhodou je snadná vyplavitelnost, která souvisí se snadnou voděrozpuštěností (Šimůnková a kol., 2021). Je proto potřeba dosáhnout jeho stabilizace v chráněném materiálu, v našem případě ve dřevě. Variantou, která v současné době přichází v úvahu pro širší praktické použití je ochrana silnovrstvými nátěrovými systémy, kde pozitivně ovlivňuje jejich celkovou životnost (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). Zároveň bylo prokázáno, že kofein nemá negativní dopady na pevnost dřeva (Borůvka a kol., 2020 – příloha DSP, Pánek a kol., 2021 – součást DSP), což je výhodně pro využití v nosných konstrukcích, které nejsou trvale vystavené působení srážek.

Levandule je na rozdíl od kofeinu ze dřeva hůře vyplavitelná, protože není rozpustná ve vodě. V případě, že by bal do dřeva aplikovaná v oleji jako nosném médiu, může mít zároveň hydrofobní účinky. V práci Šimůnková a kol., (2022 – součást DSP) se potvrdilo, že na rozdíl od kofeinu (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP) stačí pro jeho stabilizaci tenká hydrofobní vrstva na bázi modifikovaných vosků a silanolů. Levandulový esenciální olej byl v koncentracích 10% ověřen jako účinný fungicid (Bahmani a Schmidt, 2018, Pánek a kol., 2014), zároveň má ve srovnání s kofeinem lepší insekticidní účinky vůči termitům (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP, Šimůnková a kol., 2022 – součást DSP). Nevýhodou je, že levandulový esenciální olej není odpadní materiál a její pořizovací náklady jsou poměrně vysoké. Prakticky využitelnou cestou by mohlo být syntetizování účinných složek, v případě, že by bylo možné využít pro syntézu levné suroviny.

Pro ochranu dřeva jsou využitelné i další přírodní látky, zejména extraktivní látky z trvanlivých druhů dřev, chilli, propolis, esenciální oleje z dalších rostlin s fungicidním a insekticidním účinkem (Singh a Singh 2012). Stejně jako v případě levandulového esenciálního oleje a kofeinu jsou však jejich nevýhodou omezené zdroje, tím vysoká pořizovací cena a také vyplavitelnost ze dřeva. Za velkou výhodou kofeinu a levandulového esenciálního oleje lze považovat, že mají

zároveň fungicidní a insekticidní účinek, což je dělá, vzhledem k biodegradovatelnosti dřeva houbami a hmyzem, perspektivními pro praktické užití v dřevěných výrobcích a konstrukcích.

Vliv na použitelnost dřeva v praxi

Na základě výsledků uvedených v této disertační práci lze formulovat některé dopady na možné využití dřeva ošetřeného kofeinem a levandulovým esenciálním olejem v praxi. Kofein i levandulový olej se projevily jako účinný fungicid a insekticid (Bahmani a Schmidt, 2018; Kwaśniewska-Sip a kol., 2018; Pánek a kol., 2021 – součást DSP; Singh a Singh, 2021; Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP, 2022 – součást DSP). Zároveň je povzbuzující, že vlivem úpravy kofeinem nedochází ke změnám mechanických vlastností (Borůvka a kol., 2020 – příloha DSP, Pánek a kol., 2021 – součást DSP) a u obou druhů úprav se výrazněji nemění vzhled dřeva (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP, 2022 – součást DSP), což je předpokladem pro designová řešení využívající jeho přirozeného vzhledu. Zároveň lze z určitosti říct, že dřevo ošetřené přírodními látkami není vhodné pro kontakt se zemí s trvale vysokou vlhkostí. Důvodem je vyplavitelnost vodou, což je limitujícím činitelem také u dřeva vystaveného trvalému působení srážkové vody (Singh a Singh, 2012, Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP, 2022 – součást DSP). Za vhodné řešení je v tomto případě u levandulového esenciálního oleje aplikace vhodné vrchní hydrofobní vrstvy o malé tloušťce (Šimůnková a kol., 2022 – součást DSP). Kofein má však, vzhledem k malým rozměrům molekul vyplavitelnost vyšší (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP), tudíž se jeví, že vhodnou metodou jeho stabilizace během dlouhodobé expozice je pouze aplikace vrchní silnovrstvé lazury (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). V práci byl potvrzen pozitivní efekt ošetření dřeva kofeinem na její celkovou životnost, proto lze za určitou perspektivu považovat využití této úpravy jako penetrace, která zároveň zvyšuje odolnost podkladového dřeva vůči ataku dřevokaznými houbami (Pánek a kol., 2020 – součást DSP). Dřevo ošetřené kofeinem a levandulovým esenciálním olejem lze bez jakýchkoliv dalších úprav využít u zabudovaného dřeva, které není trvale vystaveno povětrnostním vlivům, však existuje u něj riziko občasných zvlhnutí nebo kondenzace vody. V případě nárůstu vlhkosti by tyto účinné látky dokázaly zabránit vzniku poškození dřevokaznými houbami. Zároveň dokáží chránit dřevo vůči ataku termity (Šimůnková a kol., 2021 – součást DSP, 2022 – součást DSP). Lze očekávat také využití vůči dřevokaznému hmyzu z dalších řádů, například brouků a blanokřídých, kteří také významně narušují zabudované dřevo v konstrukcích, v případě červotočů také interiérové zařízení.

ZÁVĚR

V posledních letech výrazně vzrůstají požadavky na zdravotně a ekologicky přijatelné způsoby ochrany dřeva vůči biotickým poškozením. Mezi hlavní degradační činitele lze zařadit zejména dřevokazné houby, dřevozbarvující houby, plísňe, mezi hmyzími škůdci jsou to zejména termiti a v mírném klimatickém pásmu dřevokazní brouci a někteří blanokřídlí. Tradiční komerční biocidy mají dostatečnou účinnost, avšak hrozí rizika poškození životního prostředí, v posledních letech bylo více účinných látek zakázáno z důvodu kumulace a zvýšení zdravotních poškození v lidském organismu.

Z těchto důvodů je významným tématem v současnosti hledání látek a postupů, které by dokázali zabudované dřevo, případně polotovary ze dřeva na skladech chránit vůči bio-poškození. Tato práce byla zaměřena zejména na testování dvou účinných látek, u kterých lze předpokládat kombinovaný fungicidní a insekticidní účinek. Jedná se o kofein a levandulový esenciální olej. U obou přípravků byly testovány koncentrace, které zajišťují účinnost, ale jsou současně ekonomicky přijatelné pro průmyslové využití. Zejména u kofeinu je výhodou, že je možná levná syntetická umělá produkce, anebo využití potravinářských odpadů, které jej obsahují.

Testovanými druhy dřev, u kterých byla hodnocena účinnost ošetření byly smrk, borovice běl a buk pro kofein a smrkové dřevo pro levandulový esenciální olej. Roztoky byly aplikovány levnou a jednoduchou metodou dlouhodobého máčení, která je výhodná pro široké praktické uplatnění těchto postupů. V průběhu práce bylo zjištěno, že účinné látky jsou ze dřeva vyplavitelné vodou. Proto byly dodatečně testovány také aplikace vrchní, nově navržené hydrofobní vrstvy na bázi směsi vosků a silanolů rozpustných ve vodě a komerční vícevrstvé nátěrové systémy. Jejich účinnost byla ověřována testy urychleného umělého stárnutí v UV-komoře anebo Xenotestu anebo testy vyplavením dle EN 84. Hodnocen byl také dopad na vybrané, důležité, fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva.

Výsledky práce prokázaly, že úprava kofeinem je dostatečně účinná pro ochranu smrkového dřeva vůči ataku dřevokaznými houbami hnědé hniloby, termity, dřevozbarvujícími houbami i plísněmi. Na povrchu těžko propustného zralého dřeva smrku byla vytvořena bariérová vrstva s vysokým obsahem kofeinu, která chránila hlouběji uložené a nechráněné dřevo vůči průniku škůdců. Naopak u dřeva buku a běle borovice docházelo během aplikace k hlubšímu průniku roztoku a rovnoměrnějšímu rozložení kofeinu ve dřevě. Tyto dva druhy dřeva mají navíc nižší přirozenou trvanlivost vůči bio-poškození. To mělo za následek, že účinnost fungicidní ochrany kofeinem u dřeva buku a borovice byla nižší ve srovnání s dřevem smrku. U dřeva smrku lze tedy doporučit jako dostatečnou aplikaci pomocí dlouhodobého máčení, u buku a běli borovice naopak, pro zvýšení účinnosti lze doporučit spíše aplikaci pomocí tlakové impregnace. Na základě výsledků lze dále konstatovat, že dostatečně účinná je

všeobecně až 2% koncentrace vodního roztoku kofeinu, která je také hraničně možnou.

Z pohledu praktického využití experimenty potvrdily, že kofein je ve vodě rozpustný, ale zároveň ze dřeva vyplavitelný, se slabou vazbou na základní dřevní komponenty. Proto je bez dodatečné úpravy vhodný pouze u zabudovaného dřeva s občasným rizikem zvýšené vlhkosti anebo kondenzace v místech tepelných mostů anebo kontaktu s kovovými spojovacími prvky. I v těchto aplikacích však může výrazně zabránit rozvoji působení dřevokazných hub, které dokážou za vhodných podmínek velice rychle narušit mechanickou funkčnost nosných prvků ze dřeva. Trvale dokáže chránit dřevo v krovech, jelikož hmyzím škůdcům postačuje 10% vlhkost dřeva. V této práci byl insekticidní účinek ověřen vůči ataku termity, kteří jsou v celosvětovém měřítku, společně z dřevokaznými houbami, nejzávažnějším škůdcem dřeva. Lze očekávat, že dřevo chráněné roztokem kofeinu bude dobře odolávat i působení, u nás hojně rozšířeným tesaříkům a červotočům. Tento předpoklad však bude nutné, před praktickým širším použitím ověřit důkladným testem dle platných standardů.

V práci byl dále testován dodatečný efekt aplikace vrchní hydrofobní vrstvy a také vícevrstvových exteriérových nátěrů. Hydrofobní vrstva na bázi vosků a silanolů nebyla dostatečně účinná, pravděpodobně z důvodu malých rozměrů molekul kofeinu, který byl po rozpuštění schopen přes ní pronikat. Proto byly dále testovány silnovrstvé lazurovací nátěry, u kterých byl potvrzen dostatečný ochranný efekt během umělého urychleného stárnutí v UV-komoře. U akrylátového vodouředitelného nátěru byla dokonce prokázána zvýšená celková životnost na kofeinem upraveném bukovém a smrkovém dřevě. Vysvětleno je to zvýšením povrchového napětí dřeva po úpravě a z toho důvodu zlepšenou adhezí nátěrů. Nátěrové systémy na takto upraveném dřevě měli před umělým stárnutím i po něm výrazně zvýšenou odolnost vůči plísním.

Úprava dřeva roztokem kofeinu neměla negativní dopad na testované vlastnosti dřeva. Zejména je důležité, že nedošlo k poklesu ohybové pevnosti, která citlivě reaguje na degradační procesy, které způsobuje nevhodný technologický postup ochrany dřeva. Proto lze takto ošetřené dřevo doporučit i do konstrukcí a pro prvky, které nesou trvalé zatížení.

Ošetření smrkového dřeva roztokem levandulového esenciálního oleje bylo také účinné vůči termitům. V této práci byla potvrzena účinnost již 5% koncentrace. Naopak, tato koncentrace se jeví jako nedostatečná ochrana vůči působení hub hnědé hniloby. Tam lze, na základě dalších prací doporučit jako účinnou až 10% koncentraci. Na rozdíl od kofeinu, levandulový olej dokázala ve dřevě zadržet během působení vody již vrchní hydrofobní vrstvy na bázi modifikovaných vosků a silanolů rozpustných ve vodě. Proto lze tento způsob ochrany dřeva vůči termitům doporučit i do exteriérových aplikací bez kontaktu se zemí. Dostatečná koncentrace 5% tento postup přibližuje také praktickému použití z pohledu ekonomiky. Levandulový esenciální olej aplikovaný formou dlouhodobého máčení v roztoku lihu a vody také neměl negativní dopady na

vybrané vlastnosti dřeva. Nebyl narušen ani vzhled dřeva, mírně narostlo povrchové napětí, tudíž lze také předpokládat pozitivní účinek na životnost nátěrů, podobně jak bylo potvrzeno u ošetření kofeinem.

Oba testované postupy ochrany dřeva se na základě výsledků této práce, ale i prací dalších výzkumných týmů, jeví jako perspektivní pro praktické použití. Zejména ošetření kofeinem je levné a srovnatelně účinné s v současné době používanými komerčními biocidy. Problémem je zatím fixace ve dřevě. Vyplavení vodou lze zatím možné úspěšně vyřešit pouze nepřímo - aplikací vodoodpudivé bariérové nátěrové vrstvy. Preventivně lze využít kofein i pro ochranu potravinářských obalů, které podléhají ataku plísněmi a dřevozabarvujícími houbami. Výsledky práce jsou důležitým příspěvkem možnosti zdravotně nezávadné a ekologicky přijatelné ochrany dřeva vůči poškození dřevokaznými houbami a plísněmi. V budoucnu je možné, že požadavky na ekologické a zdravotní dopady můžou výrazně převýšit ekonomické hledisko.

SUMMARY

In recent years, the requirements for health and ecologically acceptable ways of protecting wood against biotic damage have increased significantly. The main degrading factors include wood-destroying fungi, wood-staining fungi, moulds, insect pests, especially termites, and in the temperate climate zone, wood-destroying beetles and some bees. Traditional commercial biocides are sufficiently compelling, but there is a risk of environmental damage; in recent years, more active substances have been banned due to the accumulation and increase of health damage in the human body.

For these reasons, an important topic at present is the search for substances and processes that could protect built-in wood or semi-finished wood products in warehouses against bio-damage. This work was mainly focused on testing two active substances for which a combined fungicidal and insecticidal effect can be expected. It is caffeine and lavender essential oil. Both formulations have been tested for concentrations that ensure efficacy but are also economically acceptable for industrial use. The advantage of caffeine in particular, is that cheap synthetic artificial production or the use of food waste containing it is possible.

The wood species tested for which the effectiveness of the treatment was evaluated were spruce, white pine and beech for caffeine and spruce wood for lavender essential oil. The solutions were applied by a cheap and straightforward method of long-term soaking, which is advantageous for the wide practical application of these procedures. During the work, it was found that the active substances are washable from wood with water. Therefore, the applications of the top, newly designed hydrophobic layer based on a mixture of water-soluble waxes and silanols and commercial multilayer coating systems were additionally tested. Their effectiveness was verified by accelerated artificial ageing tests in a UV-chamber or Xenotest or by leaching tests according to EN 84. The impact on selected, important, physical and mechanical properties of wood was also evaluated.

The results of the work showed that the caffeine treatment is sufficiently adequate for the protection of spruce wood against attack by wood-destroying fungi of brown rot, termites, wood-staining fungi and moulds. A barrier layer with a high caffeine content was formed on the surface of the hard-permeable mature spruce wood, which protected the deeper and unprotected wood against the penetration of pests. In contrast, in beech and white pine wood, the solution penetrated deeper during application, and the caffeine in the wood was evenly distributed. In addition, these two types of wood have lower natural durability to bio-damage. As a result, the effectiveness of the caffeine fungicidal protection of beech and pine wood was lower compared to spruce wood. Spruce wood can therefore be recommended as a sufficient application by long-term soaking, in beech and white pine, on the contrary, to increase efficiency, application by pressure impregnation can be recommended. Based on the results, it can be

stated that up to 2% of the concentration of the aqueous caffeine solution is generally sufficiently effective, which is also marginally possible.

From the point of view of practical use, experiments have confirmed that caffeine is water-soluble, but at the same time washable from wood, with a weak bond to the basic wood components. Therefore, without additional treatment, it is only suitable for built-in wood with the occasional risk of increased humidity or condensation in places of thermal bridges or contact with metal fasteners. However, even in these applications, it can significantly prevent the development of wood-destroying fungi, which can, under suitable conditions, very quickly disrupt the mechanical functionality of wood-bearing elements. It can permanently protect the wood in trusses, as 10% wood moisture is enough for insect pests. In this work, the insecticidal effect was verified against the attack of termites, which are worldwide, together with wood-destroying fungi, the most serious wood pest. It can be expected that wood protected with a solution of caffeine will also withstand the effects of longhorn beetles and worms, which are widespread in our country. However, it will be necessary to verify this assumption by a thorough test according to valid standards before practical wider use.

The additional effect of the application of the top hydrophobic layer as well as multilayer exterior coatings was further tested in this work. The hydrophobic layer based on waxes and silanols was not effective enough, probably due to the small size of the caffeine molecules, which was able to penetrate through it after dissolution. Therefore, thick-layer glazing coatings were further tested, in which a sufficient protective effect was confirmed during artificial accelerated ageing in the UV chamber. The waterborne acrylate coating has even been shown to increase the overall life of caffeine-treated beech and spruce wood. This is explained by the increase in surface tension of the wood after treatment and, therefore by the improved adhesion of the coatings. Coating systems on wood treated in this way had significantly increased resistance to mould before and after artificial ageing.

Treatment of wood with caffeine solution did not have a negative impact on the tested wood properties. In particular, it is important that there is no decrease in the flexural strength, which is sensitive to the degradation processes caused by an inappropriate technological procedure for wood protection. Therefore, wood treated in this way can also be recommended for structures and for elements that carry permanent loads.

Treatment of spruce wood with a solution of lavender essential oil was also effective against termites. In this work, the efficiency of 5% concentration was confirmed. On the contrary, this concentration appears to be insufficient protection against brown-rot fungi. There, based on further work, up to 10% concentration can be recommended as effective. Unlike caffeine, lavender oil was able to retain the upper hydrophobic layers based on modified waxes and water-soluble silanols in wood during the action of water. Therefore, this method of wood protection against termites can also be recommended for outdoor

applications without ground contact. A sufficient concentration of 5% also brings this procedure closer to practical use from an economic point of view. Lavender essential oil applied in the form of long-term soaking in a solution of alcohol and water also did not have negative effects on selected wood properties. The appearance of the wood was not disturbed either, the surface tension increased slightly, so a positive effect on the durability of the coatings can also be expected, similar to that confirmed with caffeine treatment.

Based on the results of this work, as well as the work of other research teams, both tested wood protection procedures appear to be promising for practical use. In particular, caffeine treatment is inexpensive and comparatively effective with currently used commercial biocides. The problem so far is fixation in wood. So far, water leaching can only be successfully solved indirectly - by applying a water-repellent barrier coating. As a preventive measure, caffeine can also be used to protect food packaging, which is attacked by the mould and wood-staining fungi. The results of the work are an important contribution to the possibility of healthy and ecologically acceptable protection of wood against damage by wood-destroying fungi and moulds. In the future, it is possible that the requirements for environmental and health impacts may significantly exceed the economic aspect.

ВЫВОД

В последние годы значительно возросли требования к санитарно-гигиеническим и экологически приемлемым способам защиты древесины от биотических повреждений. К основным разрушающим факторам относятся дереворазрушающие грибы, деревоокрашивающие грибы, плесневые грибы, насекомые-вредители, особенно термиты, а в умеренном климатическом поясе - дереворазрушающие жуки и некоторые пчелы. Традиционные коммерческие биоциды достаточно эффективны, но существует риск нанесения ущерба окружающей среде, в последние годы более активные вещества запрещены из-за накопления и увеличения вреда для здоровья в организме человека.

По этим причинам важной темой в настоящее время является поиск веществ и процессов, которые могли бы защитить встроенную древесину или полуфабрикаты из дерева на складах от биоповреждений. Эта работа была в основном сосредоточена на тестировании двух активных веществ, для которых можно ожидать комбинированного фунгицидного и инсектицидного действия. Это кофеин и эфирное масло лаванды. Оба состава были испытаны на концентрации, обеспечивающие эффективность, но также экономически приемлемые для промышленного использования. Преимущество кофеина, в частности, в том, что возможно дешевое синтетическое техногенное производство или использование пищевых отходов, его содержащих.

Испытываемыми породами древесины, для которых оценивалась эффективность обработки, были ель, белая сосна и бук в отношении кофеина и еловая древесина в отношении эфирного масла лаванды. Растворы наносились дешевым и простым методом длительного замачивания, что выгодно для широкого практического применения этих процедур. В ходе работы было установлено, что активные вещества смываются водой с древесины. В связи с этим были дополнительно опробованы возможности нанесения верхнего гидрофобного слоя новой конструкции на основе смеси водорастворимых восков и силанолов и коммерческих многослойных систем покрытия. Их эффективность подтверждена испытаниями на ускоренное искусственное старение в УФ-камере или Xenotest или испытаниями на выщелачивание в соответствии с EN 84. Также оценивалось влияние на отдельные важные физико-механические свойства древесины.

Результаты работы показали, что обработка кофеином достаточно эффективна для защиты древесины ели от поражения дереворазрушающими грибами бурой гнили, термитами, деревоокрашивающими грибами и плесневыми грибами. На поверхности труднопроницаемой зрелой древесины ели формировался барьерный слой с высоким содержанием кофеина, который защищал более глубокую и незащищенную древесину от проникновения вредителей. Напротив,

в древесине бука и белой сосны раствор при нанесении проникал глубже, и кофеин в древесине распределялся равномерно. Кроме того, эти два вида древесины обладают меньшей природной стойкостью к биоповреждениям. В результате эффективность кофеиновой фунгицидной защиты древесины бука и сосны была ниже по сравнению с древесиной ели. Таким образом, еловая древесина может быть рекомендована в качестве достаточного применения путем длительного замачивания, а бука и белой сосны, наоборот, для повышения эффективности может быть рекомендовано применение путем пропитки под давлением. Основываясь на результатах, можно констатировать, что до 2% концентрации водного раствора кофеина обычно достаточно эффективны, что также возможно.

С точки зрения практического использования, эксперименты подтвердили, что кофеин водорастворим, но в то же время вымывается из древесины, имеет слабую связь с основными компонентами древесины. Поэтому без дополнительной обработки подходит только для деревянных конструкций с периодическим риском повышенной влажности или образования конденсата в местах тепловых мостов или контакта с металлическими креплениями. Однако даже в этих случаях он может значительно предотвратить развитие дереворазрушающих грибов, которые при подходящих условиях могут очень быстро нарушить механическую функциональность древесно-несущих элементов. Может надолго защитить древесину в фермах, так как для насекомых-вредителей достаточно 10% влажности древесины. В этой работе инсектицидный эффект был проверен против нападения термитов, которые во всем мире, наряду с дереворазрушающими грибами, являются наиболее серьезными вредителями древесины. Можно ожидать, что древесина, защищенная раствором кофеина, выдержит и воздействие широко распространенных в нашей стране усачей и червей. Однако перед более широким практическим использованием необходимо будет проверить это предположение тщательным испытанием в соответствии с действующими стандартами.

В данной работе дополнительно проверялся дополнительный эффект от нанесения верхнего гидрофобного слоя, а также многослойных наружных покрытий. Гидрофобный слой на основе восков и силанолов оказался недостаточно эффективным, вероятно, из-за малого размера молекул кофеина, которые смогли проникнуть через него после растворения. Поэтому были дополнительно испытаны толстослойные лессировочные покрытия, у которых был подтвержден достаточный защитный эффект при искусственном ускоренном старении в УФ-камере. Было показано, что акрилатное покрытие на водной основе даже увеличивает общий срок службы древесины бука и ели, обработанной кофеином. Это объясняется увеличением поверхностного натяжения древесины после обработки и, следовательно, улучшением адгезии покрытий. Системы покрытий на

обработанной таким образом древесине имели значительно повышенную устойчивость к плесени до и после искусственного старения.

Обработка древесины раствором кофеина не оказала отрицательного влияния на исследуемые свойства древесины. В частности, важно отсутствие снижения прочности на изгиб, чувствительной к процессам деградации, вызванным неправильным технологическим приемом защиты древесины. Поэтому обработанную таким образом древесину также можно рекомендовать для конструкций и элементов, несущих постоянные нагрузки.

Обработка древесины ели раствором эфирного масла лаванды также эффективна против термитов. В данной работе была подтверждена эффективность 5% концентрации. Наоборот, эта концентрация оказывается недостаточной для защиты от бурой гнили. Там, исходя из дальнейшей работы, можно рекомендовать как эффективную концентрацию до 10%. В отличие от кофеина лавандовое масло способно сохранять верхние гидрофобные слои на основе модифицированных восков и водорастворимых силанолов в древесине при воздействии воды. Поэтому этот метод защиты древесины от термитов можно рекомендовать и для наружных работ без контакта с землей. Достаточная концентрация 5% также приближает эту процедуру к практическому использованию с экономической точки зрения. Эфирное масло лаванды, примененное в виде длительного замачивания в растворе спирта и воды, также не оказало негативного влияния на свойства выбранной древесины. Внешний вид древесины также не был нарушен, поверхностное натяжение немного увеличилось, поэтому можно ожидать положительного эффекта на долговечность покрытий, аналогичного подтвержденному при обработке кофеином.

По результатам этой работы, а также работы других исследовательских групп, оба апробированных способа защиты древесины представляются перспективными для практического использования. В частности, обработка кофеином недорога и сравнительно эффективна по сравнению с используемыми в настоящее время коммерческими биоцидами. Проблема пока в фиксации в древесине. Проблема выщелачивания воды может быть успешно решена только косвенным путем — нанесением водоотталкивающего барьерного покрытия. В качестве превентивной меры кофеин также можно использовать для защиты упаковки пищевых продуктов от плесени и грибков, окрашивающих дерево. Результаты работы являются важным вкладом в возможность здоровой и экологически приемлемой защиты древесины от поражения дереворазрушающими грибами и плесневыми грибами. В будущем не исключено, что требования по воздействию на окружающую среду и здоровье могут значительно превысить экономический аспект.

DOPORUČENÍ PRO VĚDU A PRAXI

Hlavní vědecké přínosy předkládané práce, které dosud nebyly řešeny v jiných výzkumech, jsou následující:

1) Bylo zjištěno, že druh ošetřeného dřeva výrazně ovlivňuje fungicidní účinnost kofeinu. Z tohoto pohledu je poměrně překvapivým zjištěním, že u málo propustného dřeva smrku byla ochrana účinnější ve srovnání s bukem a bělí borovice, do kterých roztok kofeinu pronikal snadněji. Možnou příčinou je vytvoření výraznější bariérové vrstvy během povrchové modifikace, s vyšším obsahem kofeinu, která chránila dostatečně dřevo vůči průniku hyf dřevokazných a dřevozbarvujících hub.

2) Byla zjištěna různá možnost vazby kofeinu na dřevo z pohledu druhu dřeva a také jednotlivých stavebních komponentů – ligninu, celulózy a hemicelulózy. Toto zjištění přispívá k poznání, který druh dřeva je vhodnější pro tento způsob ochrany, a které stavební složky dřeva budou po úpravě kofeinem náchylnější na znehodnocení ligninovornými nebo celulózovornými houbami.

3) Bylo zjištěno, že pro exteriérové expozice vystavené povětrnostním vlivům bez kontaktu se zemí je jako ochrana vůči vyplavení u levandulového esenciálního oleje dostačující hydrofobní vrstva, u kofeinu je nutné využít bariérovou ochranu silnovrstvou lazurou.

4) Kofeinem povrchově modifikované dřevo zlepšuje adhezi a zvyšuje celkovou životnost vodou ředitelných nátěrových hmot na dřevo v exteriéru. Konkrétně v této práci byl potvrzen pozitivní efekt na akrylátové transparentní silnovrstvé vodouředitelné lazure pro exteriérové použití.

5) Byl zjištěn výrazný insekticidní účinek 2% roztoku kofeinu a 5% roztoku levandulového esenciálního oleje vůči termitům. Dostatečná byla povrchová modifikace po aplikaci jednoduchou technologií dlouhodobého máčení smrkového dřeva. Stejný efekt byl s kofeinem aplikovaným tou samou technologií dosažen u smrkového dřeva také vůči dřevokazným, dřevozbarvujícím houbám a také plísním.

Dosažené výsledky přispívají k rozvoji v této oblasti výzkumu a vytyčují další cesty, kterými se může využít kofeinu a levandulového esenciálního oleje dále ubírat. Zejména je vhodné dále zkoumat možnost zlepšení vazby kofeinu na jednotlivé chemické stavební složky dřeva. Další možností je zkoumání možnosti navázání nových funkčních skupin a prvků na molekulu kofeinu, které by vedly ke zvýšení jeho biocidní účinnosti. Významné pro vědu i praxi může být další zkoumání synergických účinků kofeinu a jiných biocidních přípravků. Je také nutné zkoumat další druhy a způsoby bariérové ochrany kofeinu a levandulového esenciálního oleje vůči vyplavení ze dřeva. U levandulového esenciálního oleje je důležité stanovit komplexním testováním nejúčinnější komponenty se směrovým fungicidním a insekticidním účinkem. Dále se jeví perspektivní zkoumání možnosti syntézy jeho nejúčinnějších aktivních komponent, které by

vedlo ke zlevnění této biocidní ochrany dřeva. Stejně jako u kofeinu je možné zkoumat i možné synergické účinky s jinými insekticidy a fungicidy přírodního, nebo syntetického původu.

Na základě experimentálních výsledků této disertační práce a na základě studia prací s příbuznou problematikou, lze vyvodit následující doporučení pro praktické průmyslové využití testovaných přírodních biocidních látek:

1) Kofein je využitelný jako fungicid a insekticid přírodního původu pro ochranu zabudovaného dřeva, ale i pro krátkodobou ochranu polotovarů vůči napadení dřevozbarvujícími houbami, plísněmi a hmyzem.

2) Kofein prokázal v 2% koncentraci účinek vůči houbám hnědé hniloby, cenově je přibližně na stejné úrovni ve srovnání s komerčními biocidy, navíc bez nepříznivých dopadů na zdraví člověka a životní prostředí.

3) Ze dřeva je kofein vyplavitelný, bez dodatečné úpravy vícevrstevným nátěrovým systémem je vhodný pouze pro ochranu dřeva, které je bez kontaktu se zemí a bez trvalého vystavení srážkové vodě. Může se tedy doporučit do expozic, kde hrozí občasné navlhnutí, případně kondenzace vody v rizikových místech konstrukcí.

4) Nemění mechanické vlastnosti dřeva, a proto je vhodný i pro ochranu nosných dřevěných prvků v konstrukcích.

5) Dostatečně účinná je pro ošetření dřeva smrku levná aplikace pomocí dlouhodobého máčení, což nevyžaduje žádnou speciální technologii. Pouze u dřeva buku a borovice, lze na rozdíl od smrku, doporučit pro lepší účinnost aplikací pomocí tlakových technologií. Krátkodobou ochranu polotovarů na skladech lze aplikovat také nátěrem, nebo postřikem.

6) Pro exteriérové aplikace byla odzkoušena ochrana transparentním akrylátovým exteriérovým vodouředitelným nátěrem, který zabraňuje vyplavení kofeinu ze dřeva. Díky zlepšené adhezi na kofeinem ošetřeném dřevě byl zvýšena jeho celková životnost vlivem povětrnostním vlivům a vůči růstu plísní.

7) Ošetření dřeva roztokem levandulového esenciálního oleje dokázalo výrazně zvýšit odolnost smrkového dřeva vůči ataku termity. Dostatečná byla již 5% koncentrace. Fungicidní účinnost nelze touto koncentrací dosáhnout, dle dalších prací je dostatečně účinná až 10% koncentrace.

8) Pro exteriérové aplikace dřeva bez kontaktu se zemí ale plně vystavené povětrnosti je potřeba na dřevo ošetřené levandulovým esenciálním olejem dodatečně aplikovat hydrofobizační vrstvou – v této práci byl použit 6% roztok směsi vosků a silanolů.

9) Ošetření dřeva roztokem levandulového esenciálního oleje nemá nepříznivé dopady na fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva, což jej předurčuje i pro výrobky s nosnou funkcí v dřevěných konstrukcích.

10) Lze předpokládat i repelentní účinek levandulového esenciálního oleje, proto se jeví vhodnou a ekologicky přijatelnou variantou i pro krátkodobou ochranu dřeva na skladech – zejména vůči různým druhům dřevokazného hmyzu.

LITERATURA

- [1] AKÇAY, C., et al. Durability of wood treated with propolis. *BioResources*, 2020, **15**(1), 1547-1562.
- [2] AKHTARI, M.; NICHOLAS, D. Evaluation of particulate zinc and copper as wood preservatives for termite control. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2013, **71**(3), 395-396.
- [3] AKSOY, A., et al. Colour and gloss changes of Scots pine after heat modification. *Wood Research*, 2011, **56**(3), 329-336.
- [4] AL-HARBI, N. A., et al. Evaluation of Insecticidal Effects of Plants Essential Oils Extracted from Basil, Black Seeds and Lavender against *Sitophilus oryzae*. *Plants*, 2021, **10**(5), 829.
- [5] ALLEN, A. B. Caffeine identification, differentiation of synthetic and natural caffeine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1961, **9**(4), 294-295
- [6] ALMEIDA, A. A. P., et al. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, **54**(23), 8738-8743.
- [7] ANANTHAPADMANABHA, H. S.; NAGAVENI, H. C.; SRINIVASAN, V. V. Control of wood biodegradation by fungal metabolites. *Intern. Res. Group Wood Preserv*, 1992, 1527.
- [8] ANTONELLI, F., et al. Essential Oils as Alternative Biocides for the Preservation of Waterlogged Archaeological Wood. *Microorganisms*, 2020, **8**(12), 2015.
- [9] ARAQUE, P., et al. Insecticidal activity of caffeine aqueous solutions and caffeine oleate emulsions against *Drosophila melanogaster* and *Hypothenemus hampei*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2007, **55**(17), 6918-6922.
- [10] ARORA, D. S.; OHLAN, D. In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *Journal of Basic Microbiology*, 1997, **37**(3), 159-165.
- [11] ARORA, D. S.; JEET KAUR, Gurinder; KAUR, Hardeep. Antibacterial activity of tea and coffee: their extracts and preparations. *International Journal of Food Properties*, 2009, **12**(2), 286-294.
- [12] ARTUSIO, F., et al. Synthesis of high payload nanohydrogels for the encapsulation of hydrophilic molecules via inverse miniemulsion polymerization: caffeine as a case study. *Drug development and industrial pharmacy*, 2019, **45**(12), 1862-1870.
- [13] ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in plant science*, 2001, **6**(9), 407-413.
- [14] ASHIHARA, H.; SANO, H.; CROZIER, A. Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*, 2008, **69**(4), 841-856.
- [15] ASHIQ, S. Natural occurrence of mycotoxins in food and feed: Pakistan perspective. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*, 2015, **14**(2), 159-175.

- [16] BAECHLER, R. H.; GJOVIK, L. R. *Looking back at 75 years of research in wood preservation at the US forest products laboratory*. Forest Products Laboratory, 1986.
- [17] BAHMANI, M.; SCHMIDT, O. Plant essential oils for environment-friendly protection of wood objects against fungi. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 2018, **20**(3), 325-332.
- [18] BAKAR, E. S., et al. Durability of phenolic-resin-treated oil palm wood against subterranean termites a white-rot fungus. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **85**: 126-130.
- [19] BARBERO-LÓPEZ, A., et al. Activity of spent coffee ground cinnamates against wood-decaying fungi in vitro. *BioResources*, 2018, **13**(3), 6555-6564.
- [20] BARBERO-LÓPEZ, A., et al. Pyrolysis distillates from tree bark and fibre hemp inhibit the growth of wood-decaying fungi. *Industrial Crops and Products*, 2019, **129**: 604-610.
- [21] BARBERO-LÓPEZ, A., et al. Revalorization of coffee silverskin as a potential feedstock for antifungal chemicals in wood preservation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2020, **152**: 105011.
- [22] BARCÍK, Š.; GAŠPARÍK, M.; RAZUMOV, E. Y. Effect of temperature on the color changes of wood during thermal modification. *Cellulose chemistry and technology*, 2015, **49**(9-10), 789-798.
- [23] BARRON, G. L. Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle. *Biodiversity*, 2003, **4**(1), 3-9.
- [24] BARTYNSKA, M.; BUDZIKUR-RAMZA, E. Action of some essential oils on fungi. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences. Biological Sciences (Poland)*, 2001.
- [25] BASTOS, D. H. M., et al. Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol*, 2007, **1**(1), 37-46.
- [26] BATISH, D. R., et al. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, 2008, **256**.12: 2166-2174.
- [27] BAUCH, J.; SCHWEERS, W.; BERNDT, H. Lignification during heartwood formation: comparative study of rays and bordered pit membranes in coniferous woods. 1974.
- [28] BECKER, G. Concerning termites and wood. *Unasylva*, 1976.
- [29] BELT, Tiina, et al. Wood preservative potential of scots pine bark and knot extractives. 2013.
- [30] BETINA, V., et al. *Mycotoxins. Chemical, biological and environmental aspects*. Elsevier, 1989.
- [31] BI, Z., et al. Identification of antifungal compounds in konjac flying powder and assessment against wood decay fungi. *Industrial Crops and Products*, 2019, **140**: 111650.
- [32] BIERI, M., et al. effect of metaldehyde and methiocarb slug pellets on *Lumbricus terrestris* Linne. *Monograph-British Crop Protection Council*, 1989.
- [33] BIGNELL, D. E. Wood-feeding termites. In: *Saproxyllic insects*. Springer, Cham, 2018. p. 339-373.

- [34] BLANCHETTE, R. A., et al. Changes in structural and chemical components of wood delignified by fungi. *Wood Science and Technology*, 1985, **19**(1), 35-46.
- [35] BLANCHETTE, R. A. Degradation of the lignocellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany*, 1995, **73**(S1), 999-1010.
- [36] BLANCHETTE, R. A., et al. Biological degradation of wood. 1990.
- [37] BODIG, Jozsef; JAYNE, Benjamin A. Mechanics of wood and wood composites. 1982.
- [38] BORŮVKA, V., et al. Selected physical and mechanical properties of beech wood treated by caffeine. In: *Proceedings of the 9th Hardwood Conference*. 2020. p. 50-56.
- [39] BOUTELJE, J. B.; GOERANSSON, B. Decay in wood constructions below the ground water table [in Swedish cities]. *Swedish Journal of Agricultural Research (Sweden)*, 1975.
- [40] BRAGULAT, M. R., et al. Dyes as fungal inhibitors: effect on colony diameter. *Applied and environmental microbiology*, 1991, **57**(9), 2777-2780.
- [41] BRELID, P. L., et al. Resistance of acetylated wood to biological degradation. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 2000, **58**(5), 331-337.
- [42] BRISCHKE, CH.; ALFREDSSEN, G. Wood-water relationships and their role for wood susceptibility to fungal decay. *Applied microbiology and biotechnology*, 2020, **104**(9), 3781-3795.
- [43] BROCCO, V. F., et al. Potential of teak heartwood extracts as a natural wood preservative. *Journal of Cleaner Production*, 2017, **142**: 2093-2099.
- [44] BRODA, M.; MAZELA, B.; FRANKOWSKI, M.. Durability of wood treated with aatmos and caffeine-towards the long-term carbon storage. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 2018, **20**(3), 455-468.
- [45] BRUCE, A.; KING, B. Biological control of wood decay by *Lentinus lepideus* (Fr.) produced by *Scytalidium* and *Trichoderma* residues. *Material und Organismen= Materials and organisms*, 1983.
- [46] BRUCE, A., et al. Production of volatile organic compounds by *Trichoderma* in media containing different amino acids and their effect on selected wood decay fungi. 2000.
- [47] BRUCE, A.; HIGHLEY, T. L. Control of growth of wood decay Basidiomycetes by *Trichoderma* spp. and other potentially antagonistic fungi. *Forest products journal*, 1991, **41**(2), 63-67.
- [48] BUCHANAN, ROBERT L.; HOOVER, DALLAS G.; JONES, SUSAN B. Caffeine inhibition of aflatoxin production: mode of action. *Applied and environmental microbiology*, 1983, **46**(5), 1193-1200.
- [49] CAI, L., et al. Bio-based preservative using methyl- β -cyclodextrin-essential oil complexes for wood protection. *International journal of biological macromolecules*, 2020, **147**: 420-427.
- [50] CANDELIER, K., et al. Control of wood thermal treatment and its effects on decay resistance: a review. *Annals of Forest Science*, 2016, **73**(3), 571-583.
- [51] CANNON, M. E.; COOKE, C. T.; MCCARTHY, J. S. Caffeine-induced cardiac arrhythmia: an unrecognised danger of healthfood products. *Medical Journal of Australia*, 2001, **174**(10), 520-521.

- [52] CAVANAGH, H. M. A.; WILKINSON, J. M. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy research*, 2002, **16**(4), 301-308.
- [53] CEASE, K. R.; BLANCHETTE, R. A.; HIGHLEY, T. L. Interactions between *Scytalidium* species and brown-or white-rot basidiomycetes in birch wood. *Wood Science and Technology*, 1989, **23**(2), 151-161.
- [54] CELIMENE, C. C., et al. Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. 1999.
- [55] CLAUSEN, C. A.; YANG, V. Protecting wood from mould, decay, and termites with multi-component biocide systems. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2007, **59**(1), 20-24.
- [56] CLERICI, D. J., et al. Effects of nanostructured essential oils against subterranean termites (*Coptotermes gestroi*). *Journal of Applied Entomology*, 2018, **142**(4), 406-412.
- [57] COFTA, G., et al. Caffeine as anti-mould additive for wood preservative contain copper. *Warsaw University of Life Sciences*, 2018, **101**.
- [58] COGULET, A.; BLANCHET, P.; LANDRY, V. The multifactorial aspect of wood weathering: a review based on a holistic approach of wood degradation protected by clear coating. 2017.
- [59] COLVIN, V L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature biotechnology*, 2003, **21**(10), 1166.
- [60] COSSETIN, L F., et al. In vitro safety and efficacy of lavender essential oil (Lamiaceae: Lamiaceae) as an insecticide against houseflies (Diptera: Muscidae) and blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Journal of economic entomology*, 2018, **111**(4), 1974-1982.
- [61] COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 1999, **12**(4), 564-582.
- [62] CRAWFORD, D. M., et al. Treatability of US wood species with pigment emulsified creosote. *Forest products journal. Vol. 50, no. 1 (Jan. 2000):. p. 29-35: ill., 2000.*
- [63] CROAN, S.C. Environmentally benign biological wood preservative by *Streptomyces rimosus*, SC-36. Doc. No. IRG/WP 97-10196. The Inter. Res. Group on Wood Preservation, Sweden. 1997.
- [64] CROAN, S. C.; HIGHLEY, T. L. Biological control of sapwood-inhabiting fungi by metabolites from *Streptomyces rimosus*. In: *Mycotoxins, Wood Decay, Plant Stress, Biocorrosion, and General Biodeterioration*. Springer, Boston, MA, 1994. p. 243-256.
- [65] DA PORTO, C.; DECORTI, D.; KIKIC, I. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 2009, **112**(4), 1072-1078.
- [66] DANIEL, G. Microview of wood under degradation by bacteria and fungi. 2003.
- [67] DANIEL, G; NILSSON, T. Developments in the study of soft rot and bacterial decay. In: *Forest products biotechnology*. CRC Press, 1997. p. 47-72.
- [68] DANIELS, C. R.; RUSSELL, J. H. Analysis of western redcedar (*Thuja plicata* Donn) heartwood components by HPLC as a possible screening tool for trees with enhanced natural durability. *Journal of chromatographic science*, 2007, **45**(5), 281-285.

- [69] DECKER, P., et al. Exposure to wood dust and heavy metals in workers using CCA pressure-treated wood. *AIHA Journal*, 2002, **63**(2), 166-171.
- [70] DEMIREL, G. K., et al. Decay, insect, and termite resistance of wood modified with epoxidized vegetable oils. *Holzforschung*, 2021, **75**(3), 281-287.
- [71] DENNER, S. S.. *Lavandula angustifolia miller: english lavender*. *Holistic Nursing Practice*, 2009, **23**(1), 57-64.
- [72] DESCH, H. E., et al. *Timber: its structure, properties and utilisation*. MacMillan Press Ltd., 1981.
- [73] DUBEY, R. C. Fungicidal effect of essential oils of three higher plants on sclerotia of *Macrophomina phaseolina*. *Indian Phytopathol*, 1991, **44**(2), 241-244.
- [74] EAGEN, R.; BRISSON, A.; BREUIL, C. The sap-staining fungus *Ophiostoma piceae* synthesizes different types of melanin in different growth media. *Canadian journal of microbiology*, 1997, **43**(6), 592-595.
- [75] EATON, R. A., et al. *Wood: decay, pests and protection*. Chapman and Hall Ltd, 1993.
- [76] EDLUND, M-L.; NILSSON, T. Testing the durability of wood. *Materials and structures*, 1998, **31**(9), 641-647.
- [77] ELAD, Y., et al. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*-scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology*, 1983, **73**(1), 85-88.
- [78] ELAM, J.; BJÖRDAL, CH. A review and case studies of factors affecting the stability of wooden foundation piles in urban environments exposed to construction work. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2020, **148**: 104913.
- [79] ENOKI, A.; TANAKA, H.; FUSE, G. Degradation of lignin-related compounds, pure cellulose, and wood components by white-rot and brown-rot fungi. 1988.
- [80] EPMEIER, H., et al. Bending creep performance of modified timber. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 2007, **65**(5), 343-351.
- [81] ERDOĞAN, O.; CELIK, A.; ZEYBEK, A. In Vitro Antifungal Activity of Mint, Thyme, Lavender Extracts and Essential Oils on *Verticillium dahliae* Kleb. 2016.
- [82] ERIKSSON, K-E. L.; BLANCHETTE, R. A.; ANDER, P. *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [83] ERLAND, L. AE; MAHMOUD, S. S. Lavender (*Lavandula angustifolia*) oils. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, 2016, 501-508.
- [84] ESTEVES, Bruno; PEREIRA, Helena. Wood modification by heat treatment: A review. *BioResources*, 2009, **4**(1), 370-404.
- [85] EVANS, P. D. Weathering and photoprotection of wood. 2008. 69-117.
- [86] EVANS, P. Emerging technologies in wood protection. *Forest Products Journal*, 2003, **53**(1), 14.
- [87] FACKLER, K.; SCHWANNINGER, M. How spectroscopy and microspectroscopy of degraded wood contribute to understand fungal wood decay. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2012, vol. **96**, no. 3, s. 587-99. ISSN 01757598.

- [88] FERNANDES, A. S., et al. Impacts of discarded coffee waste on human and environmental health. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2017, **141**, 30-36.
- [89] FIDAH, A., et al. Natural durability of *Cedrus atlantica* wood related to the bioactivity of its essential oil against wood decaying fungi. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 2016, **18**(4), 567-576.
- [90] FLOUDAS, D., et al. The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science*, 2012, **336**(6089), 1715-1719.
- [91] FREEMAN, M. H., et al. Past, present, and future of the wood preservation industry. *Forest products journal*, 2003, **53**(10), 8.
- [92] FRIEDMAN, M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular nutrition & food research*, 2007, **51**(1), 116-134.
- [93] GADD, G. M. Melanin production and differentiation in batch cultures of the polymorphic fungus *Aureobasidium pullulans*. *FEMS Microbiology Letters*, 1980, **9**(3), 237-240.
- [94] GASCÓN-GARRIDO, P., et al. Resistance of wood modified with different technologies against Mediterranean termites (*Reticulitermes* spp.). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **82**, 13-16.
- [95] GEIB, S. M., et al. Lignin degradation in wood-feeding insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, **105**(35), 12932-12937.
- [96] GEISSMAN, T. A. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. *Pigments, Isoprenoid Compounds and Phenolic Plant Constituents*, 1963, **9**: 265.
- [97] GELBRICH, J. *Bacterial wood degradation: a study of chemical changes in wood and growth conditions of bacteria*. Sierke Verlag, 2009.
- [98] GÉRARDIN, P. New alternatives for wood preservation based on thermal and chemical modification of wood—a review. *Annals of Forest Science*, 2016, **73**(3), 559-570.
- [99] GIERLINGER, N., et al. Heartwood extractives and lignin content of different larch species (*Larix* sp.) and relationships to brown-rot decay-resistance. *Trees*, 2004, **18**(2) 230-236.
- [100] GOBAKKEN, L. R.; LEBOW, P. K. Modelling mould growth on coated modified and unmodified wood substrates exposed outdoors. *Wood science and technology*, 2010, **44**(2) 315-333.
- [101] GOKTAS, O., et al. A research on the usage of extracts from two poisonous plants (*Muscari neglectum* Guss. and *Gynandris sisyrinchium* (L.) Parl.) as a wood preservative. *Wood Research (Bratislava)*, 2010, **55**(2), 53-62.
- [102] GONZÁLEZ-LAREDO, R. F., et al. Wood preservation using natural products. *Madera y bosques*, 2015, **21**(SPE), 63-76.
- [103] GOODELL, B.; QIAN, Y.; JELLISON, J. Fungal decay of wood: soft rot—brown rot—hite rot. In *Development of Commercial Wood Preservatives*; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 2008; Volume **982**, pp. 9–31. ISBN 978-0-8412-3951-7.

- [104] GOODELL, B.; WINANDY, J. E.; MORRELL, J. J. Fungal Degradation of Wood: Emerging Data, New Insights and Changing Perceptions. *Coatings*, 2020, **10**(12), 1210.
- [105] GRADECI, K., et al. Mould growth criteria and design avoidance approaches in wood-based materials—A systematic review. *Construction and building materials*, 2017, **150**, 77-88.
- [106] GRAHAM, R. D. History of wood preservation. *Wood deterioration and its prevention by preservative treatments*, 1973, **1**, 1-30.
- [107] GREAVES, H. The effect of bacterial action on some wood cubes in shake culture. *Material und organismen. Suppl*, 1965, **1**, 61-67.
- [108] GREEN III, F.; HIGHLEY, T. L. Mechanism of brown-rot decay: paradigm or paradox. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1997, **39**(2-3), 113-124.
- [109] GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. Caffeine and resistance of coffee to the berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, **51**(24), 6987-6991.
- [110] GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. Caffeine does not protect coffee against the leaf miner *Perileucoptera coffeella*. *Journal of chemical ecology*, 2000, **26**(6), 1447.
- [111] GUIMARÃES, A. C., et al. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 2019, **24**(13), 2471.
- [112] HAKIL, M., et al. Caffeine degradation in solid state fermentation by *Aspergillus tamarii*: effects of additional nitrogen sources. *Process Biochemistry*, 1999, **35**(1-2), 103-109.
- [113] HALLENBERG, N.; KÜFFER, N. Long-distance spore dispersal in wood-inhabiting basidiomycetes. *Nordic journal of botany*, 2001, **21**(4), 431-436.
- [114] HART, J. H. The role of wood exudates and extractives in protecting wood from decay. In: *Natural Products of Woody Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1989. p. 861-880.
- [115] HASHEMI, S. K. H.; LATIBARI, A. J. Evaluation and identification of walnut heartwood extractives for protection of poplar wood. *BioResources*, 2011, **6**(1), 59-69.
- [116] HASSANPOUR, S., et al. Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. 2011.
- [117] HECKMAN, M. A.; WEIL, J.; DE MEJIA, E. G. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of food science*, 2010, **75**(3), R77-R87.
- [118] HEISEY, R. M.; GORHAM, B. K. Antimicrobial effects of plant extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* and other micro-organisms. *Letters in Applied Microbiology*, 1992, **14**(4), 136-139.
- [119] HERRERA, R., et al. Comparative evaluation of different thermally modified wood samples finishing with UV-curable and waterborne coatings. *Applied Surface Science*, 2015, **357**, 1444-1453.

- [120] HERRERA, R., et al. Evolution of thermally modified wood properties exposed to natural and artificial weathering and its potential as an element for façades systems. *Construction and Building Materials*, 2018a, **172**, 233-242.
- [121] HERRERA, R., et al. Weathering resistance of thermally modified wood finished with coatings of diverse formulations. *Progress in Organic Coatings*, 2018b, **119**, 145-154.
- [122] HESSELBERG, T.; VOLLRATH, F. The effects of neurotoxins on web-geometry and web-building behaviour in *Araneus diadematus* Cl. *Physiology & behavior*, 2004, **82**(2-3), 519-529.
- [123] HIGHLEY, T. L. Biodeterioration of wood. *Wood handbook: wood as an engineering material*. Madison, WI: USDA Forest Service, Forest Products Laboratory, 1999. General technical report FPL; GTR-113: Pages 13.1-13.16, 1999, **113**.
- [124] HIGHLEY, T. L.; RICARD, J. Antagonism of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* against wood decay fungi. *Material und Organismen*, 1988, **23**, 3.
- [125] HILL, C. A. S., 2006: Wood Modification: Chemical, Thermal and other processes. Wiley, UK, pp. 260. <http://dx.doi.org/10.1002/0470021748>.
- [126] HILL, C. A. S. Wood modification: An update. *BioResources*, 2011, **6**(2), 918-919.
- [127] HINGSTON, J. A., et al. The importance of the short-term leaching dynamics of wood preservatives. *Chemosphere*, 2002, **47**(5), 517-523.
- [128] HOLLINGSWORTH, R. G.; ARMSTRONG, J. W.; CAMPBELL, E. Caffeine as a repellent for slugs and snails. *nature*, 2002, **417**(6892), 915-916.
- [129] HOMAN, W. J.; JORISSEN, A. J. M. Wood modification developments. *Heron*, 2004, **49**(4), 360-369.
- [130] HON, D. N.-S.; SHIRAISHI, N. *Wood and cellulosic chemistry, revised, and expanded*. CRC press, 2000.
- [131] HON, D. N.-S.; FEIST, W. C. Weathering characteristics of hardwood surfaces. *Wood Science and Technology*, 1986, **20**(2), 169-183.
- [132] HRČKOVÁ, M., et al. Color change of selected wood species affected by thermal treatment and sanding. *BioResources*, 2018, **13**(4), 8956-8975.
- [133] HU, L., et al. Application of plant essential oils in controlling wood mold and stain fungi. *BioResources*, 2021, **16**(1), 1325.
- [134] HUMAR, M.; LESAR, B. Efficacy of linseed-and tung-oil-treated wood against wood-decay fungi and water uptake. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **85**, 223-227.
- [135] HUMPHREY, D. G. The chemistry of chromated copper arsenate wood preservatives. *Reviews in inorganic chemistry*, 2002, **22**(1), 1-40.
- [136] HUSSAIN, A.; SHRIVASTAV, A.; JAIN, S. K. Antifungal Activity of Essential Oils against Local Wood Degrading Cellulolytic Filamentous Fungi. *Advances in Bioresearch*, 2013, **4**(2).
- [137] HYDE, S. M.; WOOD, P. M. A mechanism for production of hydroxyl radicals by the brown-rot fungus *Coniophora puteana*: Fe (III) reduction by cellobiose dehydrogenase and Fe (II) oxidation at a distance from the hyphae. *Microbiology*, 1997, **143**(1), 259-266.

- [138] CHANG, S-T, et al. Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of Taiwania (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. 1999.
- [139] CHEN, Y., et al. The effect of heat treatment on the chemical and color change of black locust (*Robinia pseudoacacia*) wood flour. *BioResources*, 2012, **7**(1), 1157-1170.
- [140] CHENG, S-S., et al. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource technology*, 2008, **99**(11), 5145-5149.
- [141] CHENG, S-S., et al. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource technology*, 2006, **97**(2), 306-312.
- [142] CHITTENDEN, C.; SINGH, T. Antifungal activity of essential oils against wood degrading fungi and their applications as wood preservatives. *International Wood Products Journal*, 2011, **2**(1), 44-48.
- [143] CHOWDHURY, A., et al. Tea waste management: a case study from West Bengal, India. *Indian Journal of Science and Technology*, 2016, **9**(42), 1-6.
- [144] ILLMAN, B. L. Oxidative degradation of wood by brown-rot fungi. *Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism. American Society of Plant Physiologists*, 1991, 97-196.
- [145] IMKEN, A. A. P., et al. Resistance of different wood-based materials against mould fungi: A comparison of methods. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2020, **78**(4), 661-671.
- [146] INOUE, S., et al. The vapor activity of oregano, perilla, tea tree, lavender, clove, and geranium oils against a Trichophyton mentagrophytes in a closed box. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2006, **12**(6), 349-354.
- [147] JACOBSEN, R. M., et al. Wood-inhabiting insects can function as targeted vectors for decomposer fungi. *Fungal Ecology*, 2017, **29**, 76-84.
- [148] JEBRANE, M.; PICHAVANT, F.; SÈBE, G. A comparative study on the acetylation of wood by reaction with vinyl acetate and acetic anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 2011, **83**(2), 339-345.
- [149] JELOKOVÁ, E.; ŠINDLER, J. Influence of beech and acacia wood extractives on activity of wood-destroying fungi. In: *1st Symposium-Drevoznehodnocující huby*. 1997. p. 133-139.
- [150] JONES, D., et al. The commercialisation of ThermoWood† products (Doc. No. IRG/WP 06-40339). *International Research Group on Wood Preservation*, 2006.
- [151] KAMDEM, D. P.; PIZZI, A.; JERMANNAUD, A. Durability of heat-treated wood. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 2002, **60**(1), 1-6.
- [152] KAPLAN, R. J., et al. Topical use of caffeine with hydrocortisone in the treatment of atopic dermatitis. *Archives of dermatology*, 1978, **114**(1), 60-62.
- [153] KARTAL, N. Mold resistance of heat-treated wood. Document No IRG/WP 07-40358. *The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm Sweden*, 2007.

- [154] KARTAL, S. N., et al. Effect of essential oil compounds and plant extracts on decay and termite resistance of wood. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 2006, **64**(6), 455-461.
- [155] KARTAL, S. N., et al. Efficacy of tar oil recovered during slow pyrolysis of macadamia nut shells. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, **65**(2), 369-373.
- [156] KE, J., et al. Advanced biorefinery in lower termite-effect of combined pretreatment during the chewing process. *Biotechnology for biofuels*, 2012, **5**(1), 11.
- [157] KHOSHRAFTAR, Z., et al. Chemical composition of an insecticidal hydroalcoholic extract from tea leaves against green peach aphid. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2019, **16**(11), 7583-7590.
- [158] KIRK, T. K.; HIGHLEY, T. L. Quantitative changes in structural components of conifer woods during decay by white-and brown-rot fungi. *Phytopathology*, 1973, **63**(11), 1338-1342.
- [159] KIRK, T. K.; CULLEN, D. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. *Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry*. Wiley, New York, 1998, 273-307.
- [160] KIRKER, G. T., et al. The role of extractives in naturally durable wood species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **82**, 53-58.
- [161] KIRKER, G. T.; BISHELL, A. B.; LEBOW, P. K. Laboratory evaluations of durability of southern pine pressure treated with extractives from durable wood species. *Journal of economic entomology*, 2016, **109**(1), 259-266.
- [162] KIRKER, G.; WINANDY, J. Above ground deterioration of wood and wood-based materials. In: *Deterioration and protection of sustainable biomaterials*. American Chemical Society, 2014. p. 113-129.
- [163] KJELLOW, A. W.; HENRIKSEN, O. Supercritical wood impregnation. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2009, **50**(3), 297-304.
- [164] KLEIN, M. L., et al. Acute toxicity of essential oils to the pest slug *Deroceras reticulatum* in laboratory and greenhouse bioassays. *Journal of Pest Science*, 2020, **93**(1), 415-425.
- [165] KOBETIČOVÁ, K., et al. Antifungal activity of methylxanthines based on their properties. *BioResources*, 2020a, **15**(4), 8110.
- [166] KOBETIČOVÁ, K., et al. Biodegradation of methylxanthines by *Coniophora puteana*. In: *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, 2021a. p. 020014.
- [167] KOBETIČOVÁ, K., et al. Influence of Selected Storage Temperatures on Wood Properties and its Biological Resistance After the Use of Methylxanthines. *BioResources*, 2021b, **16**(3).
- [168] KOBETIČOVÁ, K.; BÖHM, M.; ČERNÝ, R. Mutual interactions of fungi and molds on woods treated with a caffeine solution: A preliminary study. In: *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, 2020b. p. 020010.
- [169] KOBETIČOVÁ, K.; ĎURIŠOVÁ, K.; NÁBĚLKOVÁ, J. Caffeine Interactions with Wood Polymers. *Forests*, 2021c, **12**(5), 533.

- [170] KRAUSE, A., et al. Wood protection with DMDHEU and its derivatives. In: *Development of commercial wood preservatives*. Edited by Schultz, Militz, Freeman, Goodell, Nicholas, ACS Symposium Series. 2008.
- [171] KRETSCHMANN, D.. Mechanical properties of wood. *Wood handbook: wood as an engineering material: chapter 5*. Centennial ed. General technical report FPL; GTR-190. Madison, WI: US Dept. of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory, 2010: p. 5.1-5.46., 2010, **190**, 5.1-5.46.
- [172] KRISHNA, K., et al. Treatise on the Isoptera of the World: Termitidae (Part One). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2013, **2013**(377), 973-1495.
- [173] KRUTUL, D., et al. Influence of urban environment originated heavy metal pollution on the extractives and mineral substances content in bark and wood of oak (*Quercus robur* L.). *Wood Res-Slovakia*, 2014, **59**(1), 177-190.
- [174] KRŽIŠNIK, D., et al. Influence of natural and artificial weathering on the colour change of different wood and wood-based materials. *Forests*, 2018, **9**(8), 488.
- [175] KUMAR, S. Chemical modification of wood. *Wood and Fiber Science*, 2007, **26**(2), 270-280.
- [176] KURT, R.; TOMAK, E. D. The effect of DMDHEU modification on physical and biological properties of parallel strand lumbers. *Construction and Building Materials*, 2019, **195**, 497-504.
- [177] KWAŚNIEWSKA-SIP, P., et al. Chemical Changes of Wood Treated with Caffeine. *Materials*, 2021, **14**(3), 497.
- [178] KWAŚNIEWSKA-SIP, P., et al. Resistance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) after treatment with caffeine and thermal modification against *Aspergillus niger*. *BioResources*, 2019, **14**(1), 1890-1898.
- [179] KWAŚNIEWSKA-SIP, P.; COFTA, G.; NOWAK, P. B. Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, **132**, 178-184.
- [180] LACIĆ, R., et al. Biological durability of oil heat treated alder wood. *Drvna industrija*, 2014, **65**(2), 143-150.
- [181] LANDE, S., et al. Furfurylation of wood: chemistry, properties, and commercialization. In: *ACS symposium series*. Oxford University Press, 2008. p. 337-355.
- [182] LANDE, S.; WESTIN, M.; SCHNEIDER, M. H. Eco-efficient wood protection: Furfurylated wood as alternative to traditional wood preservation. *Management of Environmental Quality: An International Journal*, 2004.
- [183] LEE, S. H., et al. Thermal treatment of wood using vegetable oils: A review. *Construction and Building Materials*, 2018, **181**, 408-419.
- [184] LEIFA, F.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Solid state cultivation—an efficient method to use toxic agro-industrial residues. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 2000, **40**(3), 187-197.

- [185] LEKOUNOUGOU, S., et al. Effects of caffeine on growth of wood-decaying fungi. *The International Research Group on Wood Protection*, 2007.
- [186] LEKOUNOUGOU, S.; KOCAEFE, D. Durability of thermally modified *Pinus banksiana* (Jack pine) wood against brown and white rot fungi. *International Wood Products Journal*, 2014, **5**(2), 92-97.
- [187] LEKOUNOUGOU, S., et al. Effects of propiconazole on extra-cellular enzymes involved in nutrient mobilization during *Trametes versicolor* wood colonization. *Wood Science and Technology*, 2008, **42**(2), 169-177.
- [188] LESAR, B., et al. Wax treatment of wood slows photodegradation. *Polymer degradation and stability*, 2011, 96.7: 1271-1278.
- [189] LESAR, B.; HUMAR, M. Use of wax emulsions for improvement of wood durability and sorption properties. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2011, **69**(2), 231-238.
- [190] LI, W., et al. The furfurylation of wood: A nanomechanical study of modified wood cells. *BioResources*, 2016, **11**(2), 3614-3625.
- [191] LI, Y., et al. Improvement of decay resistance of wood via combination treatment on wood cell wall: Swell-bonding with maleic anhydride and graft copolymerization with glycidyl methacrylate and methyl methacrylate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, **65**(7), 1087-1094.
- [192] LIE, S. K., et al. Can existing mould growth models be used to predict mould growth on wooden claddings exposed to transient wetting?. *Building and Environment*, 2019, **152**, 192-203.
- [193] LIN, C. Y.; WU, C. L.; CHANG, S. T. Evaluating the potency of cinnamaldehyde as a natural wood preservative. *The international research group on wood protection. Document no. IRG/WP*, 2007, 07-30444.
- [194] LIN, CH-Y, et al. Contact and fumigant actions of trans-cinnamaldehyde against wood-decay fungi evaluated by using solid-phase microextraction. *Wood Science and Technology*, 2020, **54**(1), 237-247.
- [195] LOTZ; HOLLAWAY, D. F. 1988. Wood preservation. U.S. Patent No. 4732817.
- [196] LOTZ, W. R. *Wood preservation systems including halogenated tannin extracts*. U.S. Patent No 5,270,083, 1993.
- [197] LOWOR, S. T. Studies on the chemical composition and storage parameters of sun-dried Kola nuts. *African Journal of Agricultural Research*, 2008, **3**(2), 130-133.
- [198] LU, J., et al. Stilbene impregnation retards brown-rot decay of Scots pine sapwood. *Holzforschung*, 2016, **70**(3), 261-266.
- [199] LYON, F., et al. Development of boron/linseed oil combined treatment as a low-toxic wood protection. Evaluation of boron fixation and resistance to termites according to Japanese and European standards. 2007a.
- [200] LYON, F., et al. Effect of an oil heat treatment on the leachability and biological resistance of boric acid impregnated wood. *Annals of forest science*, 2007b, **64**(6), 673-678.

- [201] MACÍAS, F. A., et al. Natural biocides from citrus waste as new wood preservatives. In: *Fourth World Congress on Allelopathy*. Wagga: Charles Sturt University, 2005. p. 21-26.
- [202] MAI, C.; KÜES, U.; MILITZ, H. Biotechnology in the wood industry. *Applied microbiology and biotechnology*, 2004, **63**(5), 477-494.
- [203] MAJHENIČ, L.; ŠKERGET, M.; KNEZ, Ž. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry*, 2007, **104**(3), 1258-1268.
- [204] MANSOUR, M. M. A.; SALEM, M. Z. M. Evaluation of wood treated with some natural extracts and Paraloid B-72 against the fungus *Trichoderma harzianum*: Wood elemental composition, in-vitro and application evidence. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, **100**, 62-69.
- [205] MANTANIS, G. I. Chemical modification of wood by acetylation or furfurylation: a review of the present scaled-up technologies. *BioResources*, 2017, **12**(2), 4478-4489
- [206] MAOZ, M., et al. Antifungal activity of plant derived extracts against *G. trabeum*. *The International Research Group on Wood Preservation, IRG/WP*, 2007, 07-30433.
- [207] MARAIS, B. N.; BRISCHKE, CH.; MILITZ, H.. Wood durability in terrestrial and aquatic environments—A review of biotic and abiotic influence factors. *Wood Material Science & Engineering*, 2020, 1-24.
- [208] MARAQA, A., et al. Effect of *Nigella sativa* extract and oil on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Turkish Journal of Biology*, 2007, **31**(3), 155-159.
- [209] MARTÍNEZ, Á. T., et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. 2005.
- [210] MATAN, N.; MATAN, N. Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2008, **62**(1), 75-78.
- [211] MATSUO, M., et al. Aging of wood: analysis of color changes during natural aging and heat treatment. 2011.
- [212] MILITZ, H. Treatment of timber with water soluble dimethylol resins to improve their dimensional stability and durability. *Wood Science and Technology*, 1993, **27**(5), 347-355.
- [213] MILITZ, H.; HOMAN, W. J. Vorbehandlung von Fichtenholz mit Chemikalien mit dem Ziel der Verbesserung der Imprägnierbarkeit. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 1992, **50**(12), 485.
- [214] MITCHELL, R.; SLEETER, T. D. Protecting wood from wood degrading organisms. *US Patent No*, 1980.
- [215] MOHAMMED, M. J.; AL-BAYATI, F. A. Isolation, identification and purification of caffeine from *Coffea arabica* L. and *Camellia sinensis* L.: A combination antibacterial study. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 2009, **3**(1).
- [216] MOHAN, D., et al. Fungicidal values of bio-oils and their lignin-rich fractions obtained from wood/bark fast pyrolysis. *Chemosphere*, 2008, **71**(3), 456-465.

- [217] MOHAREB, A. S. O.; BADAWY, M. E. I.; ABDELGALEIL, S. A. M. Antifungal activity of essential oils isolated from Egyptian plants against wood decay fungi. *Journal of wood science*, 2013, **59**(6), 499-505.
- [218] MONTES-ÁVILA, J.; LÓPEZ-ANGULO, G.; DELGADO-VARGAS, F. Tannins in fruits and vegetables: chemistry and biological functions. *Fruit Veg Phytochem*, 2017, 221-268.
- [219] MORRELL, J. J. Estimated service life of wood poles. *Technical Bulletin, North American Wood Pole Council*, http://www.woodpoles.org/documents/TechBulletin_EstimatedServiceLifeofWoodPole_12-08.pdf (Last accessed 5 April 2013), 2008.
- [220] MORRIS, P. I.; SUMMERS, N. A.; DICKINSON, D. J. The leachability and specificity of the biological protection of timber using *Scytalidium* sp. and *Trichoderma* spp. *International Research Group on Wood Preservation Document No. IRG/WP/1302*, 1986.
- [221] MOURANT, D., et al. Anti-fungal properties of the pyroligneous liquors from the pyrolysis of softwood bark. *Wood and fiber Science*, 2005, **37**(3), 542-548.
- [222] MOUTAOUAFIQ, S., et al. Antifungal activity of *Pelargonium graveolens* essential oil and its fractions against wood decay fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2019, **22**(4), 1104-1114.
- [223] MYRONICHEVA, O., et al. Growth of Mold and Rot Fungi on Copper-impregnated Scots Pine Sapwood: Influence of Planing Depth and Inoculation Pattern. *BioResources*, 2018, **13**(4), 8787-8801.
- [224] NATHANSON, J. A. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science*, 1984, **226**(4671), 184-187.
- [225] NENE, Y. L., et al. Fungicides in plant disease control. *Fungicides in plant disease control.*, 1971.
- [226] NIEMZ, P.; HOFMANN, T.; RÉTFALVI, T. Investigation of chemical changes in the structure of thermally modified wood. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 2010, **12**(2), 69-78.
- [227] NICHOLAS, D. D. *Wood deterioration and its prevention by preservative treatments: Preservatives and preservative systems*. Syracuse University Press, 1973.
- [228] NORDSTIERNA, L., et al. Towards novel wood-based materials: chemical bonds between lignin-like model molecules and poly (furfuryl alcohol) studied by NMR. *Holzforschung*, 2008, **62**(6), 709-713.
- [229] ODALANOWSKA, M., et al. Propolis and organosilanes as innovative hybrid modifiers in wood-based polymer composites. *Materials*, 2021, **14**(2), 464.
- [230] ODURO-MENSAH, D., et al. Isolation and characterisation of theobromine-degrading filamentous fungi. *Microbiological research*, 2018, **206**, 16-24.
- [231] OEVERING, P.; PITMAN, A. J.; PANDEY, K. K. Wood digestion in *Pselactus spadix* Herbst—a weevil attacking marine timber structures. *Biofouling*, 2003, **19**(S1), 249-254.
- [232] OKUTUCU, C., et al. Production of fungicidal oil and activated carbon from pistachio shell. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 2011, **91**(1), 140-146.

- [233] OTJEN, L.; BLANCHETTE, R. A. A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes. *Canadian journal of botany*, 1986, **64**(5), 905-911.
- [234] OVEREEM, J. C.; MACKOR, A. Scytalidic acid, a novel compound from *Scytalidium* species. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 1973, **92**(3), 349-359.
- [235] ÖZCAN, M. M., et al. Chemical Composition and Antifungal Activity of Lavender (*Lavandula stoechas*) Oil. *Natural Product Communications*, 2018, **13**(7), 1934578X1801300728.
- [236] PALLA, F., et al. Essential oils as natural biocides in conservation of cultural heritage. *Molecules*, 2020, **25**(3), 730.
- [237] PÁNEK, M., a kol. Efficacy of Caffeine Treatment for Wood Protection—Influence of Wood and Fungi Species. *Polymers*, 2021, **13**(21), 3758.
- [238] PÁNEK, M., et al. Caffeine and TiO₂ nanoparticles treatment of spruce and beech wood for increasing transparent coating resistance against UV-radiation and mould attacks. *Coatings*, 2020, **10**(12), 1141.
- [239] PÁNEK, M.; REINPRECHT, L.. Bio-treatment of spruce wood for improving of its permeability and soaking. Part 1: Direct treatment with the bacterium *Bacillus subtilis*. *Wood Research*, 2008, **53**(2), 1-12.
- [240] PÁNEK, M.; REINPRECHT, L.; HULLA, M. Ten essential oils for beech wood protection-efficacy against wood-destroying fungi and moulds, and effect on wood discoloration. *BioResources*, 2014, **9**(3), 5588-5603.
- [241] PANOV, D.; TERZIEV, N.. Study on some alkoxy silanes used for hydrophobation and protection of wood against decay. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009, **63**(4), 456-461.
- [242] PÂQUES, L. E.; CHARPENTIER, J-P. Perspectives for genetic improvement in heartwood size and extractive content in relation to natural durability and aesthetics in interspecific hybrid larch (*Larix* × *eurolepis*). *European Journal of Forest Research*, 2015, **134**(5), 857-868.
- [243] PARK, IL-K; SHIN, S-CH. Fumigant activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and clove bud (*Eugenia caryophyllata*) oils against the Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, **53**(11), 4388-4392.
- [244] PATACHIA, S.; CROITORU, C. Biopolymers for wood preservation. In: *Biopolymers and biotech admixtures for eco-efficient construction materials*. Woodhead Publishing, 2016. p. 305-332.
- [245] PELÁEZ, P.; CONTRERAS, D.; GUERRA, S. Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*. Vol: 7: 111-119. 2016.
- [246] PÉREZ, V., et al. In vitro decay of *Aextoxicon punctatum* and *Fagus sylvatica* woods by white and brown-rot fungi. *Wood science and technology*, 1993, **27**(4), 295-307.
- [247] PERROIS, CH., et al. Differential regulation of caffeine metabolism in *Coffea arabica* (Arabica) and *Coffea canephora* (Robusta). *Planta*, 2015, **241**(1), 179-191.

- [248] PETERSON, M. D.; THOMAS, R. J. Protection of wood from decay fungi by acetylation—an ultrastructural and chemical study. *Wood and Fiber Science*, 1978, **10**(3), 149-163.
- [249] PEYLO, A.; WILLEITNER, H. Assessment of borates as wood preservatives. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 2001, **58**(6), 476-482.
- [250] PHILLIPS-LAING, E. M.; STAINES, H. J.; PALFREYMAN, J. W. The isolation of specific bio-control agents for the dry rot fungus *Serpula lacrymans*. *Holzforschung*, 2003, **57**(6), 574-578.
- [251] PHILP, R. W.; BRUCE, A.; MUNRO, A. G. The effect of water soluble Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Sitka spruce [*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.] heartwood and sapwood extracts on the growth of selected *Trichoderma* species. *International biodeterioration & biodegradation*, 1995, **35**(4), 355-367.
- [252] POINTING, S. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 2001, **57**(1), 20-33.
- [253] POMETTI, C. L., et al. Durability of five native Argentine wood species of the genera *Prosopis* and *Acacia* decayed by rot fungi and its relationship with extractive content. *Biodegradation*, 2010, **21**(5), 753-760.
- [254] PONCSÁK, S, et al. Effect of high temperature treatment on the mechanical properties of birch (*Betula papyrifera*). *Wood Science and Technology*, 2006, **40**(8), 647-663.
- [255] POOHPHAJAI, F., et al. Bioinspired Living Coating System in Service: Evaluation of the Wood Protected with Biofinish during One-Year Natural Weathering. *Coatings*, 2021, **11**(6), 701.
- [256] POP, D. M.; TIMAR, M. C.; VARODI, A. M. COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE BIOCIDAL POTENTIAL OF 3 ESSENTIAL OILS. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Forestry, Wood Industry, Agricultural Food Engineering. Series II*, 2019, **12**(1), 83-96.
- [257] PTÁČEK, P. *Ochrana dřeva*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 8024723263;9788024723266
- [258] QI, W.; JELLISON, J. Characterization of a transplasma membrane redox system of the brown rot fungus *Gloeophyllum trabeum*. *International biodeterioration & biodegradation*, 2004, **53**(1), 37-42.
- [259] RAHMAN, N. A. A.; MUHARRAM, S. H.; ABIOLA, O. Antibacterial activity of NESCAFÉ instant coffee beverages and pharyngitis-causing *Streptococcus* species. *Brunei Darussalam J Health*, 2014, **5**, 70-79.
- [260] RAMAGE, M. H., et al. The wood from the trees: The use of timber in construction. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017, **68**, 333-359.
- [261] RAO, F. V., et al. Methylxanthine drugs are chitinase inhibitors: investigation of inhibition and binding modes. *Chemistry & biology*, 2005, **12**(9), 973-980.
- [262] RATAJCZAK, I., et al. Chemical characterization of wood treated with a formulation based on propolis, caffeine and organosilanes. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2018, **76**(2), 775-781.
- [263] REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*, 1997, **2**(1), 25-34.

- [264] REINPRECHT, L., et al. Growth inhibition of moulds on wood surfaces in presence of nano-zinc oxide and its combinations with polyacrylate and essential oils. *Wood Research*, 2017, **62**(1), 37-44.
- [265] REINPRECHT, L. *Wood Deterioration, Protection and Maintenance* [online]. GB: Wiley-Blackwell, 2016. ISBN 1119106532;9781119106531;1119106508;9781119106500
- [266] REINPRECHT, L.; VIDHOLDOVÁ, Z., Growth inhibition of moulds on wood surfaces in presence of nano-zinc oxide and its combinations with polyacrylate and essential oils. *Wood Research*, 2017, **62**(1), 37-44.
- [267] REYES-CHILPA, R., et al. Flavonoids and isoflavonoids with antifungal properties from *Platymiscium yucatanum* heartwood. 1998.
- [268] RICARD, J. L.; WILSON, M. M.; BOLLEN, W. B. Biological control of decay in Douglas-fir poles. *Forest Prod J*, 1969.
- [269] RICARD, J. L.; BOLLEN, W. B. Inhibition of *Poria carbonica* by *Scytalidium* sp., an imperfect fungus isolated from Douglas-fir poles. *Canadian Journal of Botany*, 1968, **46**(5), 643-647.
- [270] RITSCHKOFF, A-CH. *Decay mechanisms of brown-rot fungi*. Espoo: Technical Research Centre of Finland, 1996.
- [271] RODRÍGUEZ-COUTO, S. Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere*, 2017, **8**(3), 456-466.
- [272] ROWELL, R. M. Chemical modification of wood: a review. Commonwealth Forestry Bureau, Oxford, UK, 1983, vol. 6, pp. 363-382.
- [273] ROWELL, R. M., et al. Understanding decay resistance, dimensional stability and strength changes in heat-treated and acetylated wood. *Wood material science and engineering*, 2009, **4**(1-2), 14-22.
- [274] ROWELL, R. Dimensional stability and fungal durability of acetylated wood. *Drewno. Prace Naukowe. Doniesienia. Komunikaty*, 2016, **59**(197).
- [275] ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; KORUNIC, Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of stored products research*, 2007, **43**(4), 349-355.
- [276] ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; LISKA, A. Bioactivity of 1, 8-cineole, camphor and carvacrol against rusty grain beetle (*Cryptolestes ferrugineus* Steph.) on stored wheat. In: *Proceedings of the 9th international working conference on stored product protection*. 2006. p. 15-18.
- [277] RUSSELL, D. W., et al. Caffeine, a naturally occurring acaricide. *Journal of allergy and clinical immunology*, 1991, **87**(1), 107-110.
- [278] SAJFRTOVA, M., et al. Insecticide activity of peppermint and lavender extracts isolated by different methods. *Planta Medica*, 2009, **75**(09), PJ92.
- [279] SALEM, M. Z. M., et al. Antifungal activities of two essential oils used in the treatment of three commercial woods deteriorated by five common mold fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016a, **106**, 88-96.

- [280] SALEM, M. Z. M., et al. Evaluation of usage three natural extracts applied to three commercial wood species against five common molds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016b, **110**, 206-226.
- [281] SALMÉN, L.; BURGERT, I. Cell wall features with regard to mechanical performance. A review COST Action E35 2004–2008: Wood machining–micromechanics and fracture. 2009.
- [282] SANDBERG, D.; HALLER, P.; NAVI, P. Thermo-hydro and thermo-hydro-mechanical wood processing: An opportunity for future environmentally friendly wood products. *Wood Material Science & Engineering*, 2013, **8**(1), 64-88.
- [283] SANDBERG, D.; KUTNAR, A.; MANTANIS, G. Wood modification technologies-a review. *Iforest-Biogeosciences and forestry*, 2017, **10**(6), 895.
- [284] SCAPAGNINI, G., et al. Cocoa bioactive compounds: significance and potential for the maintenance of skin health. *Nutrients*, 2014, **6**(8), 3202-3213.
- [285] SCORE, A. J., et al. The biological control of *Serpula lacrymans* by *Trichoderma* species. *Holzforschung*, 1998, **52**(2), 124-132.
- [286] SEN, S. *Determination of wood preservative activities of plant phenolics*. 2001. PhD Thesis. Ph. D. Thesis. Zonguldak Karaelmas University. Graduate school of natural and applied sciences. Department of Forestry Industrial Engineering, Bartın.
- [287] SEN, S.; TASCIOGLU, C.; TIRAK, K. Fixation, leachability, and decay resistance of wood treated with some commercial extracts and wood preservative salts. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009, **63**(2), 135-141.
- [288] SENOL, A.; AYDIN, A. Solid–liquid extraction of caffeine from tea waste using battery type extractor: process optimization. *Journal of food engineering*, 2006, **75**(4), 565-573.
- [289] SERDAR, G.; DEMIR, E.; SÖKMEN, M. Recycling of tea waste: Simple and effective separation of caffeine and catechins by microwave assisted extraction (MAE). *International Journal of Secondary Metabolite*, 2017, **4**(2), 78-89.
- [290] SHALMASHI, A., et al. Isolation of caffeine from tea waste using subcritical water extraction. *Journal of Food Process Engineering*, 2010, **33**(4), 701-711.
- [291] SHANBHAG, R. R.; SUNDARARAJ, R.; ERBILGIN, Nadir. Physical and chemical properties of some imported woods and their degradation by termites. *Journal of Insect Science*, 2013, **13**(1).
- [292] SHARIFIAN, K. H., et al. Review of the mechanisms of caffeine effect on skin and hair health. 2016.
- [293] SHINY, K. S., et al. A new approach to wood protection: Preliminary study of biologically synthesized copper oxide nanoparticle formulation as an environmental friendly wood protectant against decay fungi and termites. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 2019, **21**(3), 347-356.
- [294] SHUPE, T.; LEBOW, S.; RING, D. Causes and control of wood decay, degradation and stain (Pub. 2703). *Baton Rouge, LA: Louisiana Cooperative Extension Service*, 2008.

- [295] SCHMALKO, M. E.; ALZAMORA, S. M. Color, chlorophyll, caffeine, and water content variation during yerba mate processing. *Drying technology*, 2001, **19**(3-4), 599-610.
- [296] SCHMIDT, O. Indoor wood-decay basidiomycetes: damage, causal fungi, physiology, identification and characterization, prevention and control. *Mycological Progress*, 2007, **6**(4), 261-279.
- [297] SCHULTZ, T. P.; NICHOLAS, D. D.; KELLY, S. A nonleachable waterborne composition of resin acids and wood preserving organic biocides. *US Provisional patent*, 2006, **60**(743), 669.
- [298] SI, W., et al. Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract. *Journal of Chromatography A*, 2006, **1125**(2), 204-210.
- [299] SIAU, J. F. Permeability. In: *Transport Processes in Wood*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1984. p. 73-104.
- [300] SIKORA, A., et al. Impact of thermal modification on color and chemical changes of spruce and oak wood. *Journal of Wood Science*, 2018, **64**(4), 406-416.
- [301] SIMMS, L.; WILSON, M. Caffeine-bad for slugs, good for the environment?. *Pesticide Outlook*, 2002, **13**(6), 270-271.
- [302] SINGH, A. P.; BUTCHER, J. A. Bacterial degradation of wood cell walls: a review of degradation patterns. *Journal of the Institute of Wood Science*, 1991, **12**(3), 143-157.
- [303] SINGH, T.; CHITTENDEN, C. In-vitro antifungal activity of chilli extracts in combination with *Lactobacillus casei* against common sapstain fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2008, **62**(4), 364-367.
- [304] SINGH, T.; SINGH, A. P. A review on natural products as wood protectant. *Wood Science and Technology*, 2012, **46**(5), 851-870.
- [305] SKAAR, CH. Hygroexpansion in wood. In: *Wood-water relations*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1988. p. 122-176.
- [306] ŚMIGIELSKI, K., et al. The application of essentials oils to natural and organic cosmetics. *Pol J Cosmetology*, 2008, **11**, 89-107.
- [307] SMIT, H. J.; BLACKBURN, R. J. Reinforcing effects of caffeine and theobromine as found in chocolate. *Psychopharmacology*, 2005, **181**(1), 101-106.
- [308] SOKOVIĆ, M.; VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *European Journal of plant pathology*, 2006, **116**(3), 211-224.
- [309] SONG, F.; QURESHI, A. A.; HAN, J. Increased caffeine intake is associated with reduced risk of basal cell carcinoma of the skin. *Cancer research*, 2012, **72**(13), 3282-3289.
- [310] SØRENSEN, G., et al. Controlled release of biocide from silica microparticles in wood paint. *Progress in Organic Coatings*, 2010, **68**(4), 299-306.
- [311] STAMM, A. J.; BURR, H. K.; KLINE, A. A. Staybwood—heat-stabilized wood. *Industrial & Engineering Chemistry*, 1946, **38**(6), 630-634.
- [312] STEARNS, E.I. , Colorimetry, second ed., Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna, Austria, 1986, p. 74

- [313] STILLWELL, M. A.; WALL, R. E.; STRUNZ, G. M. Production, isolation, and antifungal activity of scytalidin, a metabolite of *Scytalidium* species. *Canadian journal of microbiology*, 1973, **19**(5), 597-602.
- [314] STIRLING, R.; MORRIS, P. I.; GRACE, J. K. Prediction of the decay and termite resistance of western red cedar heartwood. *Forest Products Journal*, 2015, **65**(3-4), 84-92.
- [315] STIRLING, R.; STURROCK, R. N.; BRAYBROOKS, Ann. Fungal decay of western redcedar wood products—a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, **125**, 105-115.
- [316] STIRLING, R.; TEMIZ, A.. Fungicides and insecticides used in wood preservation. In: *Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials*. American Chemical Society, 2014. p. 185-201.
- [317] STRUNZ, G. M.; KAKUSHIMA, M.; STILLWELL, M. A. Scytalidin: a new fungitoxic metabolite produced by a *Scytalidium* species. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1972, 2280-2283.
- [318] SUSI, P., et al. Biological control of wood decay against fungal infection. *Journal of environmental management*, 2011, **92**(7), 1681-1689.
- [319] SUZUKI, T., et al. Recovery of wood preservatives from wood pyrolysis tar by solvent extraction. 1997.
- [320] ŠIMŮNKOVÁ, K., et al. Impact of modification by caffeine on some surface properties of beech wood. In: *Proceedings of the 9th Hardwood Conference*. 2020. p. 248-251.
- [321] ŠIMŮNKOVÁ, K., et al. Caffeine—Perspective natural biocide for wood protection against decaying fungi and termites. *Journal of Cleaner Production*, 2021, **304**, 127110.
- [322] TASCIOGLU, C., et al. Antifungal properties of some plant extracts used as wood preservatives. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **85**, 23-28.
- [323] TASCIOGLU, C., et al. Termiticidal properties of some wood and bark extracts used as wood preservatives. *BioResources*, 2012, **7**(3), 2960-2969.
- [324] TEACĂ, C. A., et al. Natural bio-based products for wood coating and protection against degradation: A review. *BioResources*, 2019, **14**(2), 4873-4901.
- [325] TEMIZ, A., et al. Efficiency of bio-oil against wood destroying organisms. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 2010, **4**(4), 317-323.
- [326] TERZIEV, N.; PANOV, D. Plant oils as “green” substances for wood protection. *Ecowood 2010: Minimizing the Environmental Impact of the Forest Products Industries*, 2011, 139-146.
- [327] THALER, N., et al. Biocising of Norway spruce wood using wood inhabiting fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2012, **68**, 51-55.
- [328] TILLEY, S. L. Methylxanthines in asthma. *Methylxanthines*, 2011, 439-456.
- [329] TJEERDSMA, B. F.; STEVENS, M.; MILITZ, H. Durability aspects of (hydro) thermal treated wood. *International Research Group on Wood Preservation, Document no. IRG/WP 00-4*, 2000.

- [330] TOLVAJ, L., et al. Colour stability of thermally modified wood during short-term photodegradation. *BioResources*, 2014, **9**(4), 6644-6651.
- [331] TOLVAJ, L.; PERSZE, L.; ALBERT, L. Thermal degradation of wood during photodegradation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, **105**(1), 90-93.
- [332] TREU, A., et al. Durability and protection of timber structures in marine environments in europe: an overview. *BioResources*, 2019, **14**(4), 10161-10184.
- [333] TREU, A., et al. Leaching of new environmental friendly wood protection agents. In: *Proceedings of the 5th meeting of the Nordic-Baltic Network in Wood Material Science and Engineering (WSE)*. 2009. p. 33-40.
- [334] TRIKOJUS, V. M. Some synthetic and natural antitermitic substances. *Aust Chem Inst J Proc*, 1935, **2**, 171-176.
- [335] TSIRILAKIS, K., et al. Methylxanthine inhibit fungal chitinases and exhibit antifungal activity. *Mycopathologia*, 2012, **173**(2), 83-91.
- [336] TSUOMIS, G. Science and technology of wood. 1991.
- [337] TUOR, U.; WINTERHALTER, K.; FIECHTER, A. Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *Journal of Biotechnology*, 1995, **41**(1), 1-17.
- [338] VAN DAM, R. M.; HU, F. B.; WILLETT, W. C. Coffee, caffeine, and health. *New England Journal of Medicine*, 2020, **383**(4), 369-378.
- [339] VAN DE SANDT, J. J. M., et al. In vitro predictions of skin absorption of caffeine, testosterone, and benzoic acid: a multi-centre comparison study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2004, **39**(3), 271-281.
- [340] VERMA, M.; SHARMA, S.; PRASAD, R.. Biological alternatives for termite control: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009a, **63**(8), 959-972.
- [341] VERMA, P., et al. Protection mechanisms of DMDHEU treated wood against white and brown rot fungi. 2009b.
- [342] VODA, K., et al. Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2003, **51**(1), 51-59.
- [343] WANG, J.; COOPER, P. Properties of hot oil treated wood and the possible chemical reactions between wood and soybean oil during heat treatment. In: *IRG Annual Meeting, India*. 2005.
- [344] WANG, S-Y; CHEN, P-F; CHANG, S-T. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource technology*, 2005, **96**(7), 813-818.
- [345] WARNECKE, F., et al. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*, 2007, **450**(7169), 560-565.
- [346] WEINKAUFF, O. J., et al. Caffeine evaluation, identification of caffeine as natural or synthetic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1961, **9**(5), 397-401
- [347] WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology advances*, 2003, **22**(1-2), 161-187.

- [348] WILCOX, W. W. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. *The botanical review*, 1970, **36**(1), 1-28.
- [349] WINDEISEN, E., et al. Investigation of the correlation between extractives content and natural durability in 20 cultivated larch trees. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2002, **60**(5), 373-374.
- [350] WOODS, W. G. An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environmental health perspectives*, 1994, 102.suppl 7: 5-11.
- [351] WORRALL, J. J.; ANAGNOST, S. E.; ZABEL, R. A. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. *Mycologia*, 1997, **89**(2), 199-219.
- [352] WOŹNIAK, M., et al. The possibility of propolis extract application in wood protection. *Forests*, 2020, **11**(4), 465.
- [353] XIE, Y., et al. Effects of chemical modification on the mechanical properties of wood. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2013, **71**(4), 401-416. – Vliv chemické modifikace na mechanické vlastnosti
- [354] XIE, Y., et al. Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, 2017, **108**, 278-285.
- [355] XU, G., et al. Decay resistance and thermal stability of bamboo preservatives prepared using camphor leaf extract. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **78**, 103-107.
- [356] YANG, D-Q. Potential utilization of plant and fungal extracts for wood protection. *Forest Products Journal*, 2009, **59**(4).
- [357] YANG, M., et al. Preparation of wood with better water-resistance properties by a one-step impregnation of maleic rosin. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 2018, **32**(21), 2381-2393.
- [358] YANG, V. W.; CLAUSEN, C. A. Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2007, **59**(4), 302-306.
- [359] YINGPRASERT, W.; MATAN, N.; CHAOWANA, P.. Fungal resistance and physico-mechanical properties of cinnamon oil and clove oil-treated rubberwood particleboards. *Journal of Tropical Forest Science*, 2015, 69-79.
- [360] YOON, CH., et al. Repellency of lavender oil and linalool against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and their electrophysiological responses. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2011, **14**(4), 411-416.
- [361] ZABEL, R. A.; MORRELL, J. J. *Wood microbiology: decay and its prevention*. Academic press, 2012.
- [362] ZHANG, Z., et al. Antifungal activity of monoterpenes against wood white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, **106**, 157-160.
- [363] ZINK, P.; FENGEL, D. Studies on the colouring matter of blue-stain fungi. Part 1. General characterization and the associated compounds. 1988.

Citované normy a nařízení

AWPA E10-06. Laboratory Method for Evaluating the Decay Resistance of Wood-Based Materials Against Pure Basidiomycete Cultures: Soil/Block Test. 2006

ČSN 49 0101. *Drevo. Všeobecné požiadavky na fyzikálne a mechanické skúšky*. Praha, Úřad pro normalizaci a měření: 9 s. 1980,

ČSN 49 0108. *Drevo. Zisťovanie hustoty*. Praha, Federální úřad pro normalizaci a měření: 5 s. 1993,

ČSN 49 0110. *Drevo. Medza pevnosti v tlaku v smere vláknien*. Praha: Úřad pro normalizaci a měření. 1980

ČSN 49 0604. *Ochrana dreva. Metódy stanovenia biocídnych vlastností ochranných prostriedkov na drevo*.

EN 350. *In Durability of Wood and Wood-Based Products—Testing and Classification of the Durability to Biological Agents of Wood and Wood-Based Materials*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2016.

EN 350 - 2, *Durability of Wood and Wood-Based Products-Natural Durability of Solid Wood*. British Standards Institution: London, UK, 1994

EN 113. *Wood preservatives. Test method for determining the protective effectiveness against wood destroying basidiomycetes – Determination of the toxic values*. European Committee for Standardization (CEN), Brussels, Belgium (1997)

EN 117. *Wood Preservatives. Determination of Toxic Values against Reticulitermes Species (European Termites) (Laboratory Method)*, 2007

EN 118. *Wood preservatives – Determination of preventive action against Reticulitermes species (European termites) (Laboratory method)*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 22. 2013

EN 47. *Wood preservatives - Determination of the toxic values against larvae of Hylotrupes bajulus (Linnaeus) (Laboratory method)*, 2004

EN 84. *Wood Preservatives – Accelerated Ageing of Treated Wood Prior to Biological Testing – Leaching Procedure*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, 1997, p. 10

EN 839. *In Wood Preservatives-Determination of the Protective Effectiveness against Wood Destroying Basidiomycetes-Application by Surface Treatment*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2015.

EN 152. *In Determination of the Protective Effectiveness of a Preservative Treatment against Blue Stain in Wood in Service. Laboratory Method*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2012.

EN 15457. *In Paints and Varnishes-Laboratory Method for Testing the Efficacy of Film Preservatives in a Coating against Fungi*; European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2015.

EN 927-6. *Paints and Varnishes. Part 6: Exposure of Wood Coatings to Artificial Weathering Using Fluorescent UV Lamps and Water, In Coating Materials and Coating Systems for Exterior Wood*. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, p. 27. 2018

EN ISO 846. *Plastics. Evaluation of the action of microorganisms*. International Organization for Standardization Geneva, Switzerland, 1997

ISO 11341-1. *Paints and varnishes – Artificial weathering and exposure to artificial radiation – Exposure to filtered xenon-arc radiation*. International Organization for Standardization Geneva, Switzerland, 2005

COM(2021) 572 final. SDĚLENÍ KOMISE EVROPSKÉMU PARLAMENTU, RADĚ, EVROPSKÉMU HOSPODÁŘSKÉMU A SOCIÁLNÍMU VÝBORU A VÝBORU REGIONŮ Nová Lesní strategie EU do roku 2030

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2021/1119 ze dne 30. června 2021, kterým se stanoví rámec pro dosažení klimatické neutrality a mění nařízení (ES) č. 401/2009 a (EU) 2018/1999

UNION, EJOJEU. Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. Off J Eur Union L, 2012, 167: 1-116.

Internetové zdroje

Zelená dohoda pro Evropu | *Evropská komise. European Commission* [online]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal_cs

PŘÍLOHY

Příloha 1 Konferenční článek MATEC Conference, 2019	155
Příloha 2 Konferenční článek Hardwood Conference, Šoproň, 2021	161
Příloha 3 Konferenční článek Hardwood Conference, Šoproň, 2021	168

KOBETIČOVÁ, K., KOČÍ, V., PETŘÍKOVÁ, M., **ŠIMŮNKOVÁ, K.**, ČERNÝ R.
Growth effectivity of molds in contact with methylxanthines. In: *MATEC Web of Conferences*. EDP Sciences, 2019. p. 02058.

Growth effectivity of molds in contact with methylxanthines

Klára Kobeticová^{1,*}, *Václav Kočí*¹, *Michaela Petříková*¹, *Kristýna Šimůnková*², and *Robert Černý*¹

¹Department of Materials Engineering and Chemistry, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague, Thákurova 7/2077, 166 29 Prague 6, Czech Republic

²Department of Wood Processing and Biomaterials, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 126, 165 00 Prague, Czech Republic

Abstract. Molds on buildings can cause health- and aesthetic problems. Looking for suitable cheap and non-toxic substances to eliminate them is therefore an actual task. In the present study, effect of three selected methylxanthines (1,3,7-trimethylpurine-2,6-dione, 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1*H*-purine-2,6-dione and 1,3-dimethylxanthine) on growth of non-specific species of molds occurring on building materials were tested on agar medium under laboratory conditions. The chemical substances were dissolved in distilled water and applied into agar. Solid agar has been exposed to air molds for 24 hours. Agar plates were then covered with lids and placed for 5 days in a laboratory thermostat at stable test conditions (dark place, 25 °C). After that, the mycelium was observed. The results showed that 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1*H*-purine-2,6-dione and 1,3-dimethylxanthine were not effective against the molds growth. On the other hand, 1,3,7-trimethylpurine-2,6-dione was able to eliminate mold growth on agar medium at a concentration of 1 g·l⁻¹ or higher.

1 Introduction

Wood as a natural renewable resource plays an important role in the construction industry. Wood can be attacked by various fungi and molds. While fungi are able to decompose lignin or cellulose in wood in depth, molds can be found on a cover of wood and thus can cause unpleasant coloring of timber. Therefore, constructional timber has to be painted by some protecting mixtures. Presently, original chemical protective preparations containing metals or persistent organic substances are gradually banned for their toxicity, persistency and bioaccumulative potential [1-2]. Plant extracts or extraction of some biologically active substances seem to be therefore suitable substitutes. The most spread and effective natural biocides contain extracts from trees as bark sources of plant oils (either vegetal oils or essential oils), flax seeds [3], cinnamon [4-5], citrus peels [6], and tung seeds. They have been experimented with as potential wood protectors, showing diverse activities as antibacterial, antifungal and antiinsect agents [7-10].

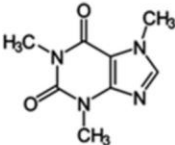
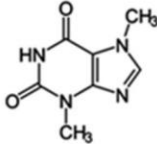
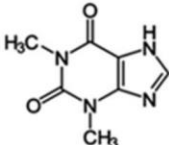
* Corresponding author: klara.kobeticova@fsv.cvut.cz

In the present study, methylxanthines were selected as model substances. They belong to a group of phytochemicals derived from the purine base xanthine obtained from plant metabolism [11-12]. The most known substances are 3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1*H*-purine-2,6-dione (theophylline), 1,3-dimethylxanthine (theobromine) and 3,7-trimethylpurine-2,6-dione (caffeine). They were also selected for this research, being commonly found in coffee, tea and cocoa. All of the selected substances are white and crystalline with variable solubility in water. Some plants can produce them as natural metabolites for their own protection against insects [13]. Effectivity of caffeine was tested against fungi and molds in the past [14-15] but theobromine and theophylline have not been tested yet. Therefore, we tested the effectiveness of water concentrations of these three selected methylxanthines against aerial molds.

2 Materials and methods

The studied methylxanthines were theophylline, theobromine, and caffeine. They were purchased from Sigma Aldrich, Ltd., Czech Republic. The most soluble concentration of selected methylxanthines was used in the preliminary experiment. The basic properties of studied substances are described in Table 1.

Table 1. Formula, structural formula, molar weight ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) and solubility in water ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) at 20 °C of studied substances.

Substance	Formula	Structural formula	Molar weight	Solubility in water
Caffeine	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$		194.19	20
Theobromine	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$		180.16	0.330
Theophylline	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$		180.16	5.5

The appropriate amount of substance powder was dissolved in sterile 3% maltose agar (P-Lab, Ltd., Czech Republic) and filled into Petri glass ($d = 9$ cm). Three replicates were prepared for each substance and for control (clear agar without tested substances). One replicate containing each tested substance was also used as a control of substance- and agar purity and sterility during the test period. The Petri dishes with cool agar were placed for fall of mold spores from air for 2 hours. After that, the Petri dishes were covered by Petri lids, packaged into aluminum foil and stored in a biological incubator for 5 days under

controlled test conditions (in dark, temperature 25 °C). At the end of the incubation period, the growth of mold mycelium was observed visually or under stereomicroscope (Olympus) in all Petri dishes. The basic experiment was performed by the same methodology but only caffeine was tested, taking into account the results of the preliminary experiment. The concentration range was 0, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20 g·l⁻¹, on the basis of results of the first experiment. The final experiment was designed according to the results of the basic experiment and the tested concentrations of caffeine were 0, 1, 2, 3, 4 and 5 g·l⁻¹.

3 Results and discussion

The results of the preliminary test indicated that theophylline and theobromine did not have any effect on the growth of mold mycelium (Fig. 1). Therefore, the basic experiment was performed with caffeine only. The results of basic experiment showed that caffeine had 100% inhibition effect for concentrations 1 g·l⁻¹ and higher. Concentrations in the range of 0.12 to 0.5 g·l⁻¹ caused certain growth of molds. Hence, the final experiment was realized using the concentration range of 1 to 5 g·l⁻¹. In this experiment, it was observed that caffeine caused 100% inhibition of mold mycelium at all tested concentrations (Fig. 2).

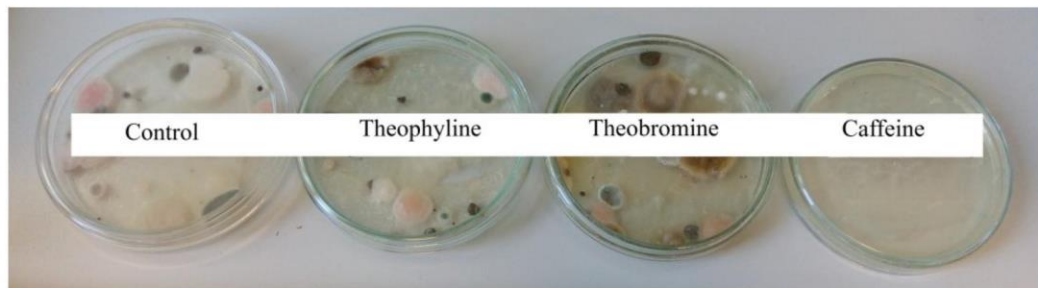


Fig. 1. Illustration of mold growth exposed to tested methyxanthines.



Fig. 2. The experiment with caffeine - growth of mold mycelium exposed to control agar without caffeine (= 0) and the concentration 1, 2, 3, 4, 5 g·l⁻¹.

The mold growth expressed as resistance (in %) against caffeine is summarized in Fig. 3. This calculation was modified for agar medium, contrary to the original use for wood materials [16]. The growth of molds had the same resistance for the individual concentrations. So, the Fig. 3 does not include error bars for individual columns.

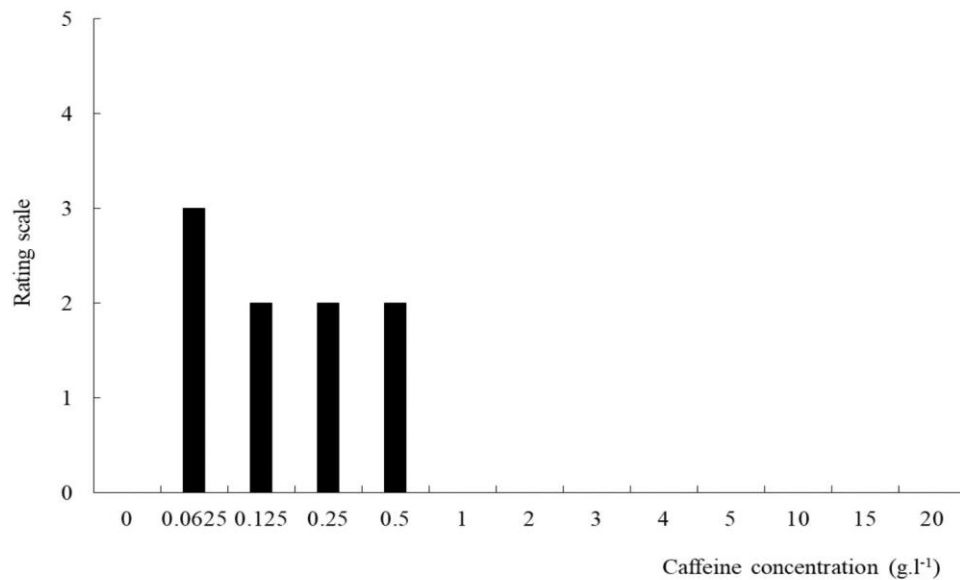


Fig. 3. Average mold resistance rating for agar containing caffeine. Mold resistance rating scale: 0 – no visible growth under the stereomicroscope, 1 – growth invisible by eyes, but clearly visible under the stereomicroscope, 2 – coverage of up to 25% of the agar dish, 3 – coverage of up to 50% of the agar dish, 4 – coverage of more than 50% of the agar dish 5 – intensive growth covering the agar dish.

4 Conclusions

In the present study, agar tests with aerial unspecific molds exposed to three selected methylxanthines, namely caffeine, theobromine and theophylline, were performed. Both degradation products of caffeine (theobromine and theophylline) did not affect the growth ability of molds but caffeine totally inhibited mold mycelium on agar medium at the concentrations higher than 1 g.l⁻¹. Therefore, further work will be focused on the use of caffeine against selected mold species on various constructional timbers.

This research has been supported by the Czech Science Foundation under Project No. 19-02067S.

References

1. Y. Liu, J. Du., Z. Dong, M.M. Rahman, Y. Gao, K. Yan, Kaihong, R. Naidu, *Chemosphere* **216**, 757 (2019)
2. A. Pizzi, *Holzforschung* **47**, 253 (1993)
3. E.E. Mastalygina, A.A. Popov, P.V. Pantyukhov, *IOP Conference Series-Materials Science and Engineering*, UNSP 012011 (2017)
4. S.Y. Wang, P.F. Chen, S.T. Chang, *Bioresour. Technol.* **96**, 813 (2005)

5. S. Bardage, M. Westin, H.A. Fogarty, S. Trey, *Int. Biodetr. Biodegr.* **86**, 54 (2014)
6. V.P. Gouw, J. Jung, J. Simonsen, Y. Zhao, *Compos Part A, APPL. Sci. Manuf.* **99**, 48 (2017)
7. B.S. Higbee, C.O. Calkins, C.A. Temple, *J. Econ. Entomol.* **94**, 1511 (2001)
8. G.A. Adedeji, O.Y. Ogunsanwo, T.O. Elufioye, *Int. Biodetr. Biodegr.* **116**, 155 (2017)
9. R.F. Gonzalez-Laredo, M. Rosales-Castro, N.E. Rocha-Guzman, J.A. Gallegos-Infante, M.R. Moreno-Jimenez, J.J. Karchesy, *Madera Bosques* **21**, 63 (2015)
10. I. Boulogne, P. Petit, H. Ozier-Lafontaine, L. Desfontaines, G. Loranger-Merciris, *Environ. Chem. Lett.* **10**, 325 (2012)
11. R.G. Hollingsworth, J.W. Armstrong, E. Campbell, *Nature* **417**, 915 (2002)
12. P.M. Frischknecht, J. Ulmer-Dufek, T.W. Baumann, *Phytochem.* **25**, 613 (1986)
13. H. Ashihara, T. Suzuki, *Front. Biosci.* **9**, 1864 (2004)
14. P. Kwasniewska-Sip, G. Cofta, P.B. Nowak, *Int. Biodetr. Biodegr.* **132**, 178 (2018)
15. D.S. Arora, D. Ohlan, *J. Basic Microbiol.* **37**, 159 (1997)
16. ISO EN 846. *Plastics. Evaluation of the Action of Microorganisms* (1997)
17. Vicencio, Ch. Andrade, A. Casadevall, D.L. Goldman, *Mycopathologia* **173**, 83 (2012)
18. L.G. Baker, C.A. Specht, M.J. Donlin, J.K. Lodge. *Eukaryot. Cell* **6**, 855 (2007)

BORŮVKA, V., ZEIDLER, A., SCHÖNFELDER, O., **ŠIMŮNKOVÁ, K.** Selected physical and mechanical properties of beech wood treated by caffeine. In: *Proceedings of the 9th Hardwood Conference*. 2020. p. 50-56.

EXPERIMENTAL METHODS

Central boards of beech wood (*Fagus sylvatica*, L.) were used to prepare the testing material. Laths, with dimensions 20 × 20 mm (radial × tangential) were cut from the beech lumber. Test specimens with dimensions 20 × 20 × 30 mm (radial × tangential × longitudinal) were subsequently cut from each lath, in the number of 4 pieces per lath. This number is intended to provide longitudinal parallelism for four series of experiments for each evaluated property. The testing specimens did not contained any knots, cracks and the allowed deflection of the fibres in the longitudinal direction was less than 5 °.

The first series of the testing samples served as a reference (without any modification), the second series of the testing samples was dipped in distilled water, the third series of the testing samples was dipped in 2% caffeine solution and the last series of the testing samples was dipped in 2% caffeine solution and subsequently exposed to the accelerated weathering. 30 testing samples for each series per the tested properties were used. After the modification, the samples were air-conditioned until the equilibrium moisture content was obtained. We used CLIMACELL 707 air-conditioning chamber (BMT Medical Technology Ltd., Brno, Czech Republic) with relative air humidity (65 ± 5)% and temperature (20 ± 2) °C. For artificial accelerated weathering, we used Xenotest Q-Sun Xe-3 (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) with repeating steps 2.5 hour of irradiation exposure and 0.5 h of spray with distilled water. Temperature of air was 45 °C, temperature at black panel 80 °C, Air humidity φ = 30%, TUV = 55 W.m⁻², Total energy during 1000 hours of test 167 530 kJ.m⁻². All of the tests on the physical and mechanical properties presented in this paper were performed according to the Czech national standards. From the physical properties basic wood density, oven-dry density, volumetric swelling were tested and from the mechanical properties, the compression strength along fibres was evaluated.

Density

Basic density was calculated as the proportion of wood dry mass and its volume in the swollen state. We used 30 testing samples per modification. The same testing samples were used to evaluate oven-dry density, which was calculated as a proportion of wood dry mass and its volume in oven-dry state. Laboratory kiln and conditions 103 ± 2 °C were used to obtain oven-dry state of wood. All those procedures followed the national standard (ČSN 49 0108, 1993) and we used these formulas (Eq. 1 and Eq. 2):

$$\rho_0 = m_0 / V_0 \quad (1)$$

Where ρ_K is the oven-dry density (kg.m⁻³), m_0 is the weight of the oven-dry testing samples (kg), V is the volume of the oven-dry testing samples (m³).

$$\rho_K = m_0 / V_{\max} \quad (2)$$

Where ρ_K is the basic wood density (kg.m⁻³), m_0 is the weight of the oven-dry testing samples (kg), V is the volume of the testing sample with the moisture content higher than the fibre saturation point (m³).

Swelling

Dimensional changes of wood related to moisture content changes was tested as a difference between the volume of saturated testing sample and the volume of oven-dry sample related to the oven-dry volume. 30 testing samples per modification were used to evaluate volumetric swelling. Drying, as part of this test, was performed using the Binder FD 115 laboratory kiln (Binder Inc., Tuttlingen, Germany) at 103 ± 2 °C. The test was performed in accordance with the national standard (ČSN 49 0126, 1989) using the following formula (Eq. 3):

$$\alpha_V = (V_{\max} - V_{\min}) / V_{\min} \cdot 100 \quad (3)$$

Where α_v is volumetric swelling (%), V_{max} is the volume of the testing sample with the moisture content higher than the fibre saturation point, V_{min} is the volume of the testing sample with moisture content 0% (oven-dry volume).

Compression strength

Compression strength parallel to the grains was determined using the Tira 50 kN testing machine. We used 30 testing samples of beech wood per modification. Before the test, the testing samples were exposed to conditions of 20 ± 2 °C and 65 ± 5 % air humidity to ensure for wood equilibrium moisture content of 12%. The national standard (ČSN 49 0110, 1980) and this formula were used (Eq. 4):

$$\sigma = F_{max} / a.b \tag{4}$$

σ is the compression strength along the fibres (MPa), F_{max} is the maximal load (N), a.b is the cross section of the testing sample (mm²).

For the statistical analysis, analysis of variance ANOVA was used to evaluate the significance of individual factors. Duncan's Multiple Range Test was used to compare the properties of wood among the different treatments. The same significance level of $\alpha = 0.05$ was used for all of the analyses.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows results for the tested physical and mechanical properties. It is obvious from the tab that effect of modification is not striking from a view of applications. Such wood could be using in industry for different purposes without serious impact on the properties. Only exception is the wood modified by caffeine and subsequently exposed to UV radiation, where evident decrease in values (especially in the case fo the physical properties) was recorded. If we applied statistical analysis, it is evident from the graphic outputs (from Fig. 1 to Fig. 4) that that there is certain statistically significant negative effect of caffeine, both on the basic physical quantity, it means density, and logically on the compression strength along the fibres.

Table 1: Tested physical and mechanical properties - mean (standard deviation)

Modification	Oven-dry density [kg/m ³]	Basic density [kg/m ³]	Volumetric swelling [%]	Compression strength [MPa]
Reference	662 (12)	691 (14)	23.3 (0.8)	58.1 (1.9)
Water	657 (9)	686 (13)	22.4 (1.1)	58.3 (1.6)
Caffeine	652 (8)	676 (20)	21.4 (0.5)	55.9 (3.5)
Caffeine-UV	610 (9)	655 (18)	17,2 (1,1)	52,9 (4,4)

Density

Figure 1 shows an effect of modification on the oven-dry density. Although the effect of modification by caffeine and by soaking into distilled water was not statistically significant, decreasing trend is visible. It can be therefore assumed that caffeine solution has a certain negative effect on the density. Caffeine modification, followed by artificial weathering had significant effect on the density, not only from the view of statistical analysis but also from the view of industry.

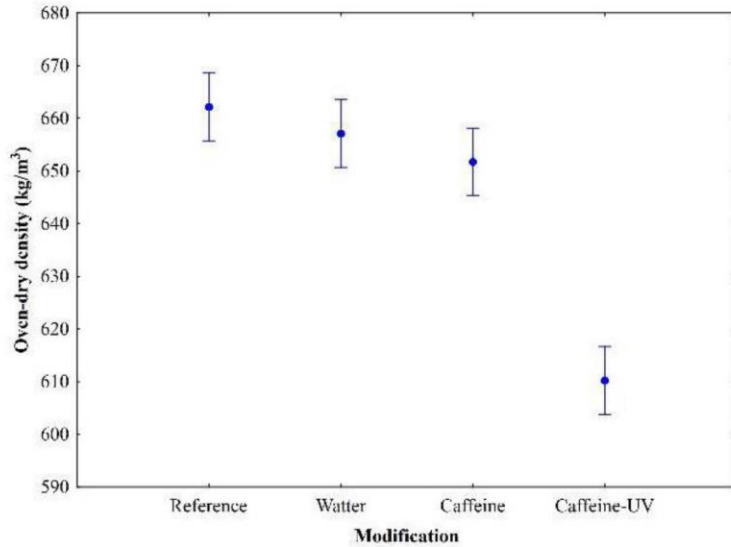


Figure 1: Effect of caffeine modification on oven-dry density

Figure 2 shows the effect of modification on the basic wood density. The results are similar to those obtained for the oven-dry density. If we could speak about the trend in this case, the decrease in the density is steeper for modification by soaking into distilled water and by caffeine. In any case, the differences are insignificant. The effect of artificial accelerated weathering on the basic wood density of beech wood is again striking.

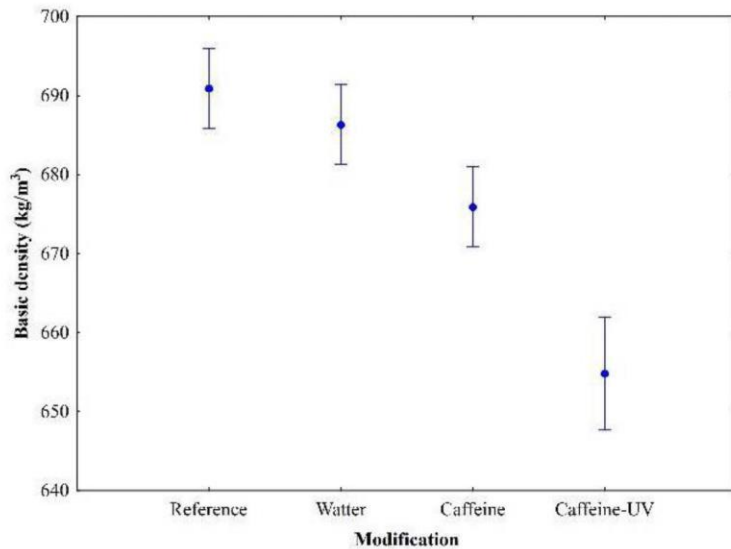


Figure 2: Effect of caffeine modification on basic wood density

Swelling

Figure 3 shows the effect of modification on the volumetric swelling. Similar distribution of the properties, as in the case of density, was confirmed. Although the differences among reference samples, soaked into distilled water and modified by caffeine are not significant, the decreasing trend is apparent. Similarly to density, samples exposed to accelerated weathering are “out of scale”, showing not only statistically

significant difference but also low that should be taken into account when using such beech lumber for different purposes.

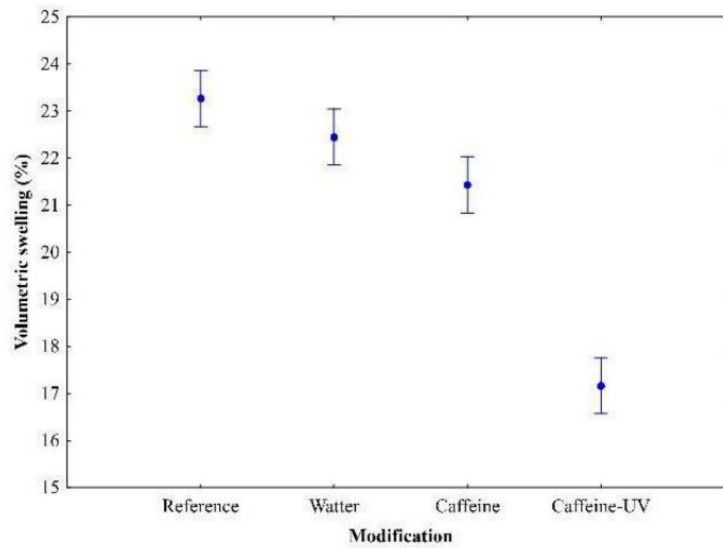


Figure 3: Effect of caffeine modification on volumetric swelling

Compression strength

Figure 4 shows the effect of modification on the compression strength, the only representatives of the mechanical properties. Compared to the physical properties, this characterises was more variable. Nevertheless, although the differences among individual modifications were not significant, the same trend, as in the case of density, can be observed. It is natural because strength properties are closely correlated to wood density (Bodig and Jayne 1982, Dinwoodie 2000, Požgaj et al. 1993).

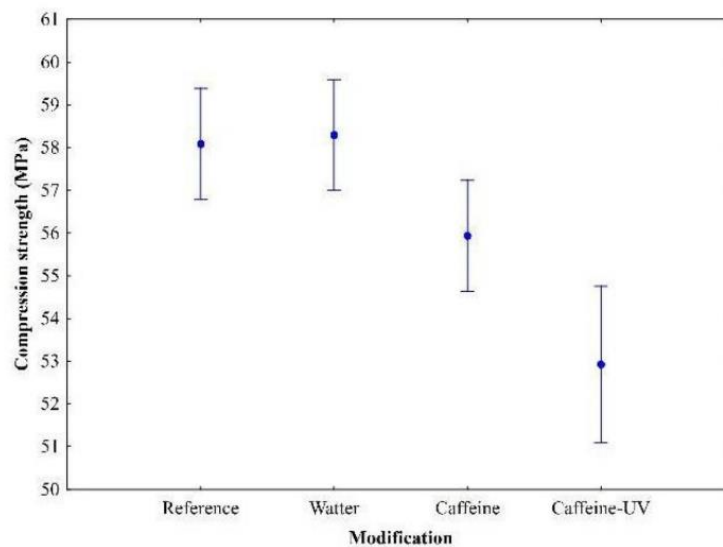


Figure 4: Effect of caffeine modification on compression strength

The decrease in wood properties for modification by caffeine is related to the soaking of samples in an aqueous solution containing caffeine, and thus to the possible leaching of substances without binding to the

structure of the wood. Furthermore, it should be noted that soaking in aqueous solution can no longer be considered as a purely viscoelastic deformation, as is the case with dimensional changes due to air humidity, but irreversible deformations also occur to some extent, which is logically reflected in lower swelling values (see water and caffeine), which is a well-known effect (Siau 1984, Skaar 1988). However, all the obtained data do not affect the overall effect, and thus we can speak about the "harmlessness" of caffeine modification on selected physical and mechanical characteristics of beech wood. The reduction in density and strength values can be considered clearly insignificant from a practical point of view and the intended use, and it is possible to focus on the positives that can be obtained by applying caffeine to wood. A further decrease in the properties (logically an increase in swelling) caused by UV radiation is also standard, corresponding to the influence of this factor on the properties of wood in general (Sandberg et al. 2017).

CONCLUSIONS

The effect of caffeine treatment on selected physical and mechanical properties of beech wood was investigated in this experiment. Based on our results, we can conclude that such kind of modification has negligible impact on the tested properties. The effect of caffeine modification is very similar to the effect of soaking into distilled water. If we found any effect, it was more or less statistically insignificant, having no consequences for processing and utilisation of such wood. In any case, the positive fact is non-reduction of the commercial properties of wood by caffeine treatment. The negative effect of UV radiation is a standard that is also valid for untreated wood.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Czech Science Foundation, Project No. 19-02067S "The effects of methylxanthine-based biocides on the properties of constructional timber".

REFERENCES

- Arora, D.S., Ohlan, D. (1997) In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *Journal of basic microbiology*, **37**(3), 159-165.
- Bodig, J., Jayne, B.A. (1982) *Mechanics of Wood and Wood Composites*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Borůvka, V., Zeidler, A., Doubek, S. (2016) Impact of silicon-based chemicals on selected physical and mechanical properties of wood. *Wood Research*, **61**(4), 513-524.
- ČSN 49 0108. *Drevo. Zisťovanie hustoty (Wood. Determination of the density)*; Czech Standards Institute: Prague, Czech Republic, 1 March 1993.
- ČSN 49 0126. *Skúšky vlastností rastlého dreva. Metóda zisťovania napúčavosti (Testing of growth wood properties. Method for determination of swelling)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1 July 1989.
- ČSN 49 0110. *Drevo. Medza pevnosti v tlaku v smere vlákien (Wood. Compression strength limits parallel to the grain)*; Office for Standardization and Measurement: Prague, Czech Republic, 1 January 1980.
- De Meijer, M. (2005) A review of interfacial aspects in wood coatings: wetting, surface energy, substrate penetration and adhesion. In: *Conference COST E18 High performance in wood coating Final Seminar*, ed. M. De Meijer. pp. 16.
- Dinwoodie, J.M. (2000) *Timber: Its Nature and Behavior*. CRC Press, New York.

- Doubek, S., Borůvka, V., Zeidler, A., Reinprecht, L. (2018) Effect of the passive chemical modification of wood with silicon dioxide (silica) on its properties and inhibition of moulds. *Wood Research*, **63**(4), 599-616.
- EN 350. *Durability of Wood and Wood-Based Products—Testing and Classification of the Durability to Biological Agents of Wood and Wood-Based Materials*. European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2016.
- Hill, C.A.S. (2011) *An Introduction to Sustainable Resource Use*. Taylor and Francis, London.
- Hill, C.A.S. (2006) *Wood Modification: Chemical, Thermal and Other Processes*. John Wiley and Sons, London.
- Hill, C.A.S., Norton, A. (2014) The environmental impacts associated with wood modification balanced by the benefits of life extension. In: *Proceedings of the ECWM7 - European Wood Conference on Wood Modification*, ed. L. Nunes, D. Jones, C.A.S. Hill, H. Militz. Lisboa, Portugal, pp. 83.
- Kwaśniewska-Sip, P., Bartkowiak, M., Cofta, G., Nowak, P. B. (2019) Resistance of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) after Treatment with Caffeine and Thermal Modification against *Aspergillus niger*. *BioResources*, **14**(1), 1890-1898.
- Kwaśniewska-Sip, P., Cofta, G., Nowak, P. B. (2018) Resistance of fungal growth on Scots pine treated with caffeine. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **132**, 178-184.
- Požgaj, A., Chovanec, D., Kurjatko, S., Babiak, M. (1993) *Štruktúra a Vlastnosti Dreva (Structure and Properties of Wood)*. Príroda, Bratislava.
- Ratajczak, I., Woźniak, M., Kwaśniewska-Sip, P., Szentner, K., Cofta, G., Mazela, B. (2018) Chemical characterization of wood treated with a formulation based on propolis, caffeine and organosilanes. *European journal of wood and wood products*, **76**(2), 775-781.
- Pánek, M., Reinprecht, L. (2016) Effect of vegetable oils on the colour stability of four tropical woods during natural and artificial weathering. *Journal of Wood Science*, **62**(1), 74-84.
- Reinprecht, L. (2016) *Wood Deterioration, Protection and Maintenance*. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Sandberg, D., Kutnar, A., Mantanis, G. (2017) Wood modification technologies - a review. *iForest*, **10**, 895-908.
- Siau, J.F. (1984) *Transport processes in wood*. Springer - Verlag, Berlin.
- Skaar, C. (1988) *Wood-Water Relations*. Springer - Verlag, Berlin.
- Wagenführ, R. (2007) *Holzatlas*. Fachbuchverlag, Leipzig.

ŠIMŮNKOVÁ, K., ZEIDLER, A., SCHÖNFELDER, O., PÁNEK, M. Impact of modification by caffeine on some surface properties of beech wood. In: *Proceedings of the 9th Hardwood Conference*. 2020. p. 248-251.

Impact of modification by caffeine on some surface properties of beech wood

Kristýna Šimůnková¹, Aleš Zeidler¹, Ondřej Schönfelder¹, Miloš Pánek^{1*}

¹ Kamýčká 129, Prague 165 00, Czech Republic, Department of Wood processing and Biomaterials, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences Prague
simunkovak@fld.czu.cz, zeidler@fld.czu.cz, schonfelder@fld.czu.cz

*Correspondence: panekmilos@fld.czu.cz

Keywords: caffeine, wood modification, beech, colour, contact wetting angle, artificial aging

ABSTRACT

Important aesthetic and functional surface characteristics of wood can be significantly influenced by modification with various impregnating solutions. Changes in colour and gloss are an aesthetic criterion, but the contact angle of wetting and the change in surface free energy can significantly affect the subsequent treatment of wood with a coating. Beech wood is typical with its low durability against fungi and insects. Resistance of beech wood can be increased using more environmentally friendly procedures. One of such ways is the utilisation of caffeine. In this work was investigated the effect of dipping of beech wood in caffeine solution and its effect on the change of gloss, colour, contact wetting angle and surface free energy. The sapwood zone of beech lumber was used to prepare the test specimens. Test specimens 40x40x10 mm were divided into 3 groups. The first group of test specimens was treated with 2% caffeine solution, the second group of samples was dipped in distilled water, the third group of test specimens was the reference. Furthermore, the impact of artificial accelerated weathering in Xenotest was assessed. Modification of wood with caffeine and wood dipping have only moderate impact on the surface free energy and water contact angle. No significant effect was confirmed for the remaining properties.

INTRODUCTION

Beech wood (*Fagus sylvatica*, L.) has good mechanical properties (Požgaj et al. 1993), but a very low resistance against wood-destroying fungi damage (EN 350). Traditional synthetic biocides are mainly used to increase bio-resistance at present (Reinprecht 2016). However, several papers examine non-traditional methods using various substances of natural origin, which can be expected to have a reduced impact on the environment (Reinprecht 2016).

One of the promising substances is also caffeine which biocidal effect against wood-destroying fungi and moulds has been confirmed in older and new works (Arora and Ohlan 1997, Ratajczak et al. 2018).

The appearance of wood, especially its colour, can be significantly changed by modification with a biocide. At the same time, wood in its original native state has a demonstrably positive effect on the human psyche (Ikei et al. 2017) and therefore it is desirable to keep it unchanged.

Treatment of wood by impregnation or modification can significantly change other surface characteristics, especially the contact angle of wetting with water and surface free energy (Pánek et al. 2019). This effect can affect the quality of the subsequent surface treatment with coating systems or gluing (De Meier 2005, Pizzi and Mittal 2011).

The aim of this experimental work is to determine the changes in selected surface characteristics of beech wood caused by treatment using dipping in caffeine solution. Furthermore, the influence of artificial accelerated weathering in the Xenotest on changes of colour, gloss and surface wetting of treated and untreated wood is evaluated.

Material and methods

Beech wood (*Fagus sylvatica*, L.) with a mean oven-dry density $\rho_0 = 678 \text{ kg.m}^{-3}$ (SD = 11,22 kg.m^{-3}) was used to prepare 24 test specimens measuring 40x40x10 mm (RxLxT). The surfaces were sanded with 120 grit sandpaper. The samples were divided into 3 groups: 1) Reference without treatment (B-Ref), 2) dipped in 2% caffeine (supplier - Sigma Aldrich) solution (B-Caf), 3) dipped in distilled water (B-H₂O). The uptake of caffeine solution and distilled water during dipping was 120 kg.m^{-3} (SD = 15.1 kg.m^{-3}). Before the further

experiments, the samples were conditioned at a temperature of $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and an air humidity of $\varphi = 65\%$ until an equilibrium moisture content was reached. The colour of the samples was determined using the Spectrophotometer CM-600d (Konica Minolta, Osaka, Japan) and the parameters L^* , a^* , b^* were measured, from which the total colour change of the treated and the weathered wood was subsequently expressed during the experiment. according to the relationship Eq. 1.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

Gloss was evaluated using glossmeter MG268-F2 (KSJ, Quanzhou, China) under 60° in longitudinal direction. The contact angle of wetting with water (CA°) and surface free energy (SFE) were determined using a Krüss DSA 30E goniometer (Krüss, Hamburg, Germany). 5 μl drops of distilled water were used for the determination of surface wetting and subsequently also diodomethane for the determination of SFE with software Krüss (Krüss, Hamburg, Germany) and ORWK model. Colour, gloss, CA° and SFE were evaluated according to the methodology deeper described in Pánek et al. (2019)

All sets of the tested samples were subjected to artificial accelerated weathering in Xenotest Q-Sun Xe-3 (Q-Lab, Cleveland, OH, USA) with repeating steps 2.5 hour of irradiation exposure and 0.5 h of spray with distilled water. Temperature of air was $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperature at black panel $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, Air humidity $\varphi = 30\%$, TUV = $55\text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, Total energy during 1000 hours of test $167\,530\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$. Weathering in the Xenotest better imitate the exterior conditions compared to a UV chamber with fluorescent lamps, as confirmed also by the manufacturer of Xenotest f. Q-Lab (U.S.).

Changes of colour, gloss, water contact angle and SFE were evaluated after dipping in caffeine solution and distilled water, as well as after 500 and 1000 hours of artificial accelerated weathering in the Xenotest. Sample surfaces were evaluated after weathering using a Lext Ols 4100 confocal laser scanning microscope (Olympus, Tokyo, Japan) at 108x magnification. Statistical analyses of the measured values were performed using software STATISTICA 13.

RESULTS AND DISCUSSION

The colour changes of beech wood after caffeine treatment, soaked in distilled water and also during weathering in the Xenotest are shown in Fig. 1. According to the parameters L^* , a^* , b^* , beech wood is one of the lighter species occurring in Central Europe (Oltean et al. 2008). It is clear (Fig. 1) that neither caffeine treatment nor soaking in water had a significant effect on total colour changes. The total colour difference after soaking in caffeine was $\Delta E^* = 0.46$ and after soaking in distilled water $\Delta E^* = 0.42$, which are unobservable changes with the naked eye.

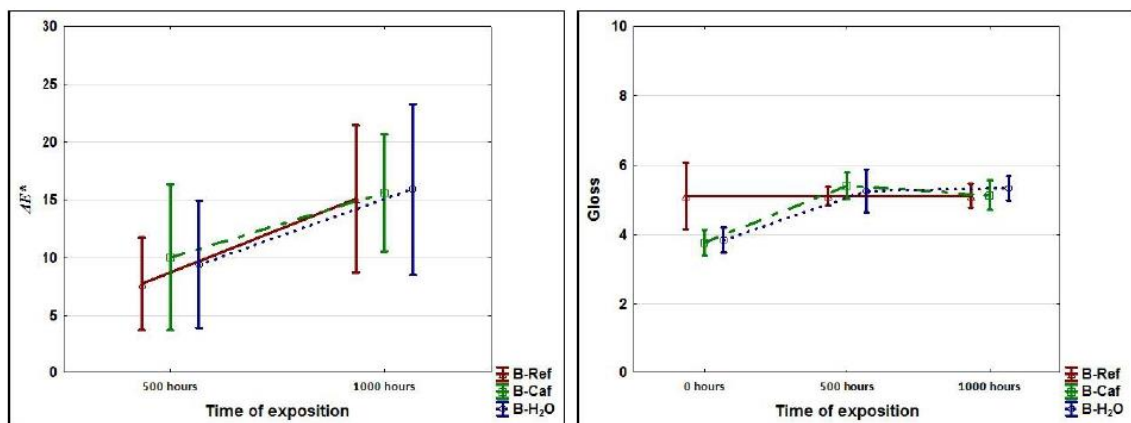


Figure 1: Colour (left) and Gloss (right) changes of beech wood after treatments and artificial accelerated weathering in Xenotest. (Mean; Whisker: $\text{Mean} \pm 2 \cdot \text{SD}$; $n=16$).

More significant colour changes occurred only due to weathering in the Xenotest, where the irradiation causes photodegradation of lignin and water spraying its leaching (Volkmer et al. 2013). However, the observed differences between all types of samples tested were negligible. From the results shown in Fig. 1, it is clear that the treatment of beech wood with caffeine has no significant effect on changes in its colour. The gloss changes are also documented in Fig. 1. After treatments using dipping in caffeine and water, there was a slight decrease in gloss observed, but during weathering in the Xenotest these differences decreased. Due to the fact that the gloss of the wood was small and the surface can be characterized as matt, the differences recorded are negligible from the point of view of an external observer.

SFE changes are listed in Tab. 1. It can be seen that the total SFE has not changed significantly, only small increase was observed after dipping, and is in the range of works cited results for beech wood (De Meier 2005). However, the Polar and Disperse ratios components of SFE have changed. Probably by simultaneous leaching of water-soluble beech wood extractives and also by chemical change of surfaces due to caffeine treatment. This predicts that there could be a change in wetting as well as adhesion of coatings to the caffeine-treated wood. As the contact angle of wetting with water was reduced, especially water-borne paints could be positively affected (Tab 1).

Table 1: Surface free energy of beech wood after treatments and water contact angle during artificial accelerated weathering in Xenotest

Type of samples	Surface free energy [Mean ± SD in mN.m ⁻²]			Contact angle of water [°]		
	Total	Disperse	Polar	0 hours	500 hours	1000 hours
B-Ref	49,15±4,67	41,21±2,04	7,94±2,63	63.7 (8.3)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
B-H ₂ O	53,84±6,91	37,7±2,82	16,14±4,08	57.8 (5.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
B-Caf	53,7±3,99	42,46±2,08	11,24±1,91	52.6 (8.7)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)

Mean (SD); Number of measurements n = 20

During weathering in the Xenotest, the wood surfaces degraded very fast, which is documented in Fig. 2 using confocal laser scanning microscope. By leaching of the photodegraded lignins, the individual wood fibres separated and microcracks were formed. The surface of the photodegraded wood consists mainly of cellulose (Volkmer et al. 2013) and for this reason CA ° water was already 0 ° after 500 hours of weathering, because there was an immediate infiltration of the deposited drop. The result points to the low resistance of beech wood to weathering, which, in addition to its low bio-resistance, makes it difficult to use it in extreme outdoor applications.

The caffeine treatment itself did not have a positive impact from this point of view, caffeine is also leachable from wood by water according to the work of Ratajczak et al. (2018). It will therefore be necessary to use additional barrier protection with coating systems protecting the surfaces of beech wood against the weathering (Reinprecht 2016).

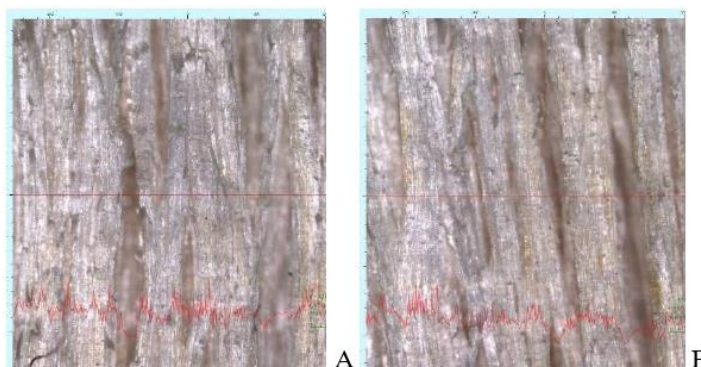


Figure 2 : B-Caf (A) and B-Ref (B) - after 1000 hours of weathering in Xenotest – possible to see microcracks creation and fibrils respectively cells release associated with the increase in roughness.

CONCLUSIONS

The effect of caffeine treatment on changes in selected surface characteristics of beech wood was investigated in this experiment. Dipping in caffeine solution did not have a significant negative effect on the change in gloss and colour of the wood, so the overall appearance for the outside observer will remain unchanged after treatment. Some effect on changes in SFE and water wetting contact angle was observed. As the caffeine treatment itself did not have a positive effect on wood surfaces during artificial accelerated weathering in the Xenotest, additional protection by coating systems will be necessary. Reducing the contact angle of wetting with water suggests that the treatment of beech wood with this biocide of natural origin can positively affect the adhesion and overall durability of exterior waterborne coating systems.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Czech Science Foundation, Project No. 19-02067S “The effects of methylxanthine-based biocides on the properties of constructional timber”.

REFERENCES

- Arora, D.S., & Ohlan, D. (1997). In vitro studies on antifungal activity of tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*Coffea arabica*) against wood-rotting fungi. *Journal of basic microbiology*, **37**(3), 159-165.
- De Meier, M. (2005) A review of interfacial aspects in wood coatings: wetting, surface energy, substrate penetration and adhesion. *COST E18 Final Seminar*; 16 p. <https://www.researchgate.net/publication/260601859>
- EN 350. *Durability of Wood and Wood-Based Products—Testing and Classification of the Durability to Biological Agents of Wood and Wood-Based Materials*. European Committee for Standardization: Brussels, Belgium, 2016.
- Ikei, H., Song, C., & Miyazaki, Y. (2017). Physiological effects of wood on humans: A review. *Journal of Wood Science*, **63**(1), 1-23.
- Oltean, L., Teischinger, A., & Hansmann, C. (2008). Wood surface discolouration due to simulated indoor sunlight exposure. *Holz als Roh-und Werkstoff*, **66**(1), 51.
- Pánek, M., Hýsek, Š., Dvořák, O., Zeidler, A., Oberhofnerová, E., Šimůnková, K., & Šedivka, P. (2019). Durability of the Exterior Transparent Coatings on Nano-Photostabilized English Oak Wood and Possibility of Its Prediction before Artificial Accelerated Weathering. *Nanomaterials*, **9**(11), 1568.
- Pizzi, A., & Mittal, K. L. (Eds.). (2011). *Wood adhesives*. CRC Press. 1st edition; p.462.
- Požgaj, A., Chovanec, D., Kurjatko, S., & Babiak, M. (1993) *Štruktúra a Vlastnosti Dreva (Structure and Properties of Wood)*. Príroda: Bratislava, Slovakia. p. 485. ISBN 80-07-00600-1.
- Ratajczak, I., Woźniak, M., Kwaśniewska-Sip, P., Szentner, K., Cofta, G., & Mazela, B. (2018) Chemical characterization of wood treated with a formulation based on propolis, caffeine and organosilanes. *European journal of wood and wood products*, **76**(2), 775-781.
- Reinprecht, L. (2016) *Wood Deterioration, Protection and Maintenance*, 1st ed.; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA; p. 376.
- Volkmer, T., Arietano, L., Plummer, C., Strautmann, J., & Noël, M. (2013) Loss of tensile strength in cellulose tissue on the surface of spruce (*Picea abies*) caused by natural photodegradation and delignification. *Polymer degradation and stability*, **98**(6), 1118-1125.