

# VYUŽITÍ KOFEINU JAKO AKTIVNÍ SLOŽKY NÁTĚROVÝCH BIOCIDNÍCH SYSTÉMŮ

**KLÁRA KOBETIČOVÁ**

*Katedra materiálového inženýrství a chemie, Fakulta stavební, České Vysoké Učení Technické v Praze, Thákurova 7, 166 29 Praha 6  
klara.kobeticova@fsv.cvut.cz*

Došlo 18.5.20, přijato 20.7.20.

**Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.**

Klíčová slova: kofein, biocidy, metylxantiny, nátěry

## Obsah

1. Úvod
2. Účinnost proti biologickým škůdcům
3. Příjem a (bio)degradace kofeinu
4. Účinnost kofeinu v boji při ochraně dřeva
5. Závěry

## 1. Úvod

Kofein (1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion) patří mezi nejznámější a nejužívanější alkaloidy, povzbuzující nervovou soustavu a srdeční činnost. Jeho strukturální vzorec můžeme vidět na obr. 1. Je to hořká, bílá, krystaly vytvářející látka, nacházející se v kávových bobech, listech čajovníku a ořeších koly. Kromě kávy a čaje se s ním tak můžeme setkat i v mnoha různých nápojích, potravinách, kosmetických výrobcích (šampóny podporující růst vlasů, krémy omlazující pleť) a potravinových doplňcích podporujících snížení únavy.

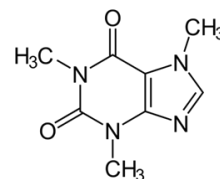
Jak už bylo zmíněno, tento alkaloid se přirozeně vyskytuje převážně v listech či plodech některých rostlin, kde má biocidní účinky. Řada vědeckých studií se proto nyní zaměřuje na využití jeho potenciálu proti různým škůdcům. Biocidní přípravky, které byly v minulé době využívány, totiž většinou obsahovaly různé kovy anebo se jednalo o perzistentní chlorované organické látky, jejichž výroba a použití již dnes není doporučeno anebo je přímo zakázáno mezinárodní legislativou REACH<sup>1</sup> a souvisejícími předpisy. Nebezpečnost kofeinu pro životní prostředí – ekotoxicita kofeinu pro necílové organismy (vodní a suchozemské rostliny, živočichy, mikroorganismy), již také byla studována a nebyl zjištěn významný negativní efekt i při vysokých koncentracích či dávkách kofeinu pro modelové laboratorní organismy<sup>2–4</sup>. V přírodních vzorcích vod či půdy bývá většinou kofein nacházen v piko- až

mikrogramových koncentracích, kde můžeme brát v úvahu jeho případný toxický potenciál v přítomných směsích v interakci spolu s dalšími chemickými látkami, jako jsou residua léčiv a výrobků denní spotřeby<sup>5</sup>. V posledních letech je výzkum zaměřen převážně na aplikaci kofeinu jako látky fungicidní a insekticidní pro ochranu dřeva a výrobků na bázi dřeva. V následujících kapitolách je proto popsána zjištěná účinnost kofeinu proti jednotlivým skupinám škůdců, jeho degradace a účinnost kofeinu při použití různých druhů ochrany dřeva (impregnace, máčení) za různých podmínek.

## 2. Účinnost proti biologickým škůdcům

Bylo prokázáno, že kofein může paralyzovat, ovlivňovat chování nebo zabít některé druhy hmyzu. Např. ve studii<sup>6</sup> autoři popisují vliv kofeinu a theobrominu na chování larev potměníka moučného, který je schopný napadat sklady jakýchkoliv potravin anebo konzumovat i dřevo. Stejně tak byl zjištěn negativní vliv kofeinu, theofylinu a theobrominu pro larvy zavíječe voskového, který se vyskytuje jako škůdce ve včelích úlech<sup>7</sup>. Byl také potvrzen neurologický účinek kofeinu na pavouky. Pokud pavouci zkonzumovali mouchy namočené v kofeinu, byli z toho dezorientováni a stavěli špatně svoje sítě pro chytání další kořisti<sup>8</sup>. Kofein byl použit i v přípravcích proti termitům<sup>9</sup>. Termiti patří mezi tzv. společenský, sociální hmyz, jejichž přežití závisí na intenzivní komunikaci a spolupráci mezi jednotlivými členy termitiště. Po aplikaci biocidního přípravku na bázi kofeinu termiti přežili, byli ale silně zmateni a byla narušena jejich vzájemná komunikace.

Kofein byl úspěšně použit také proti dřevokazným houbám a plísním. V práci Arory a Ohlana<sup>10</sup> byla studována účinnost čajových extraktů a čistého kofeinu proti deseti druhům hub, způsobujících tzv. hnědou a bílou hnilobu. Extrakt ze zeleného čaje byl ze všech zkoušených čajů proti některým houbám nejúčinnější. Káva byla účinnějším inhibátorem růstu vybraných druhů než testované druhy čaje. V jedné studii autoři zkoumali vliv pražené kávy na inhibici růstu vybraných druhů plísní a hub<sup>11</sup>. Tento pokus byl proveden na agaru. Opět byl potvrzen inhibiční účinek kofeinu. Ve studii Lekounougou a spol.<sup>12</sup> byl ko-



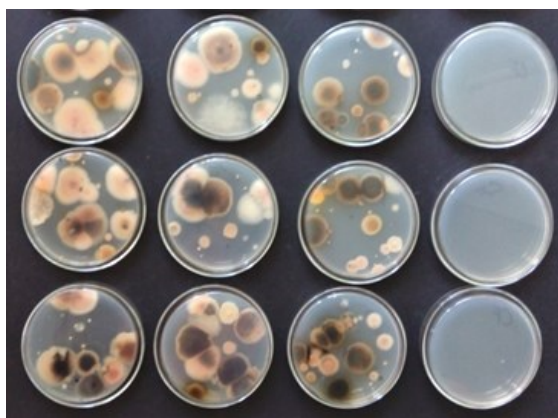
Obr. 1. Chemický vzorec kofeinu

fein úspěšně testován proti dřevokazným houbám, v kombinaci s komerčním, toxickým propikonazolem a byl zde prokázán jejich synergický účinek. Ratajczak a spol.<sup>13</sup> zkoumali účinek kofeinu na impregnované dřevo, ale pouze jednu koncentraci ( $20 \text{ g l}^{-1}$ ) a v kombinaci s organosilany a propolisem (30 %). Zjistili lepší rezistenci dřeva ošetřeného kombinací těchto látek, než když by bylo dřevo impregnováno pouze kofeinem. Kwasniewska-Sip a spol.<sup>14</sup> testovali vodné roztoky kofeinu proti 4 druhům hub a 10 druhům plísní, běžně se vyskytujících na dřevu. Houby se projeví jako citlivější (100% inhibice nastala od koncentrace kofeinu  $10 \text{ g l}^{-1}$ ) než plísně (100% inhibice od koncentrace  $25 \text{ g l}^{-1}$ ). Ti samí autoři o rok později prokázali, že borovicové dřevo bylo po termální modifikaci chráněno proti plísni *A. niger* pouze částečně<sup>15</sup>. Ve studii Kobetičové a spol.<sup>16</sup> byl testován kofein spolu s theofylinem (1,3-dimethyl-7H-purin-2,6-dion) a theobrominem (3, 7-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purin-2,6-dion) na agaru proti plísním. U všech látek byla pro testování použita koncentrace odpovídající maximální rozpustnosti látek ve vodě při  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Jedině kofein se zdál být v této studii 100% účinný proti plísním (obr. 2).

Na druhou stranu, příroda se vždy snaží o zachování určité stability a druhové rozmanitosti. Existují proto i organismy, které si v průběhu evoluce bohužel dokázaly vytvořit imunitu proti působení insekticidních účinků kofeinu či jiných látek přítomných v listech kávovníku. Jedná se např. o jeho úhlavního škůdce, motýla druhu *Perileuoptera coffeella*, jehož larvy hromadně požírají listy a bohužel dokázaly způsobit významné hospodářské škody<sup>17</sup>.

### 3. Příjem a (bio)degradace kofeinu

Ve vědeckých databázích (Web of Science, Scopus) lze dohledat mnoho studií, ve kterých je analyzováno množství kofeinu vyskytující se v určitém prostředí, jako jsou potraviny anebo povrchové či odpadní vody. Nikdo



Obr. 2. Test se vzdušnými plísněmi na agaru po 7 dnech expozice testovaným látkám. Směrem z levé na pravou stranu: kontrola (čistý agar), theobromin ( $0,33 \text{ g l}^{-1}$ ), theofylin ( $5,5 \text{ g l}^{-1}$ ), kofein ( $20 \text{ g l}^{-1}$ ). Foto: K. Kobetičová, ČVUT v Praze

ale prozatím nezkoušel měřit chemickou degradaci kofeinu v časovém horizontu. Naopak, biodegradace kofeinu je u škůdců prozkoumána poměrně na dobré úrovni. U hmyzu byla degradace kofeinu popsána ve studii<sup>7</sup> na larvách zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). Biodegradace kofeinu na theobromin a theofylin byla v larvách potvrzena pomocí HPLC. Bylo zjištěno, že degradace kofeinu v larvách probíhá stejnou cestou jako u savců, autoři proto uvádějí, že je možné tyto organismy používat v podobných typech studií jako náhradu savčích modelů. Tim by došlo k redukci obratlovců, používaných v pokusech podle nejnovějších požadavků na ochranu laboratorních zvířat podle evropské legislativy REACH. Na dřevokazných škůdcích, jako jsou tesařík, lýkožrout nebo kůrovec, prozatím podobný výzkum dle dostupných informací neproběhl. Nelze se tomu ale divit, tyto brouci mají larvy zavrtané hluboko ve dřevě, dospělí jedinci poté opouštějí poškozené dřevo pouze v určitých časových intervalech, např. jednou za tři roky. Zisk dostatečného množství jedinců pro provádění pokusů by tak byl velmi problematický.

Bylo například zjištěno, že dřevokazné houby a plísně jsou podobně jako rostliny<sup>18</sup> schopné kofein z prostředí přijímat<sup>19</sup> a stejně tak i degradovat ve svém organismu. Kofein se v nich může biodegradovat na tři různé produkty, a to na paraxanthin, theofylin a theobromin<sup>20</sup>. Paraxanthin se dále může degradovat na 7-methylxanthin anebo 1-methylxanthin. Theofylin na 1-methylxanthin anebo na 3-methylxanthin. Theobromin na 3-methylxanthin. Hlavním meziproduktem bývá theofylin. Konečným metabolitem biodegradace všech meziproductů je xanthin. Oproti tomu bakterie degradují kofein jiným způsobem. Bakterie degradují kofein na theobromin anebo paraxanthin<sup>21</sup> a poté na 7-methylxanthin a dále na xanthin<sup>18</sup>. Ten je poté konvertován na aminokyselinu guanin, kterou mikroby využívají jako zdroj živin ke svému růstu<sup>22</sup>.

### 4. Účinnost kofeinu v boji při ochraně dřeva

U dřeva existuje spousta možností, jak jej chránit před působením počasí, stárnutím, požáry i biologickými škůdci. Tato opatření se obvykle rozdělují na konstrukční, fyzikální, chemické a biologické. Velmi často se tyto metody kombinují<sup>23</sup>. V případě kofeinu se jedná o ochranu chemickou. Jak je zmíněno v kapitole 2, účinky kofeinu proti různým škůdcům byly studovány z mnoha hledisek, tj. v čisté formě, ve formě extraktů anebo výluhů na agaru anebo v kombinaci s různými látkami. Málo z těchto studií se ovšem zaměřuje na vliv jakékoliv aplikace kofeinu přímo na vlastnosti dřeva. Výjimku tvoří článek<sup>13</sup>, kde autoři za předepsaných podmínek impregnovali borovicové dřevo směsí silanů, propolisu a kofeinu. Tento komplex se navázal na dřevo vazbami Si-O a Si-C díky silanům, což bylo potvrzeno FTIR analýzou. Na vazbě se také podle FTIR analýzy podílely aminoskupiny a karbonylové skupiny kofeinu a propolisu. Na druhou stranu, nebyly prokázány změny vazby směsi na dřevo na zlepšení odolnosti dřeva napadeného houbami v porovnání s kontrolní skupinou

bez přítomnosti hub. Dále bylo zjištěno, že pokud je místo máčení dřeva v roztoku s účinnou látkou použita tlaková impregnace, tak je snížen vliv druhu ošetřovaného dřeva a použité koncentrace na efektivitu aplikace<sup>24</sup>. Navíc, pokud použijeme k ošetření dřeva vodní výluh čistého kofeinu, tak časem může docházet k jeho vyluhování ze dřeva a snížení jeho ochrany, jak bylo prokázáno ve studii<sup>25</sup>.

Ve studii<sup>15</sup> proto autoři použili kombinaci impregnace kofeinem s termální modifikací borovicového dřeva. Termální modifikace redukuje sorpci vody a mění chemismus dřeva, díky degradaci termolabilních hemicelulos<sup>26,27</sup>. Výsledky této studie naznačily, že při teplotě 237 °C došlo ke ztrátě dřevní hmoty vlivem rozvolňování chemických vazeb. Došlo také ke změně zbarvení dřeva při teplotě od 180 °C do 200 °C. Jako optimální pro termální modifikaci se zdála být teplota 160 °C, protože vedla k tvorbě stabilních vazeb kofeinu a dřeva<sup>15</sup> bez jeho následného poškození.

## 5. Závěry

Kofein, stejně jako mnoho dalších látek rostlinného původu, se dostává do popředí vědeckých prací, zabývajících se ochranou stavebních materiálů proti různým škůdcům. Jeho pesticidní účinky jsou široké, od fungicidních až po insekticidní. Jeho výhodou je nízká toxicita pro životní prostředí, snadná výroba a nízká cena a efektivní účinnost proti různým škůdcům v různých formách od čistého kofeinu přes jeho aplikaci v různých směsích či extraktech z přírodních zdrojů (výluhy z listů a plodů různých rostlin).

*Vypracováno s finanční podporou Grantové Agentury České republiky, z projektu číslo 19-02067S.*

### Seznam zkratk

HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (Fourier Transform Infrared spectroscopy)
REACH	nařízení o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (Registration, Evaluation, Assessment of Chemicals)

### LITERATURA

1. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006. o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, a o změně směrnice 1999/45/ES a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 793/93, nařízení Komise (ES) č. 1488/94, směrnice Rady 76/769/EHS a směrnice. (ÚV EU 30.12.2006 L 396, str. 1).
2. Testolin R. C., Tischer V., Lima A. O., Cotelle S., Féraud J. F., Radetski C. M.: *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 19, 2186 (2012).
3. Losonszky G.: *Diplomová práce*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2014.
4. Lopez-Cruz L., San-Miguel N., Bayarri P.: *Front. Behav. Neurosci.* 10, 1 (2016).
5. Zou J., Li N.: *J. Chromatogr. A* 1136, 106 (2006).
6. Kobetičová K., Petříková M., Nábělková J., Černý R.: *Proceedings of 7<sup>th</sup> International Conference on Chemical Technology, April 15. – 17. 2019, Mikulov – Czech Republic* (Česká společnost průmyslové chemie, ed.), str. 42, Praha 2019.
7. Maguire R., Kunc M., Hyrs I., Kavanagh K.: *Neurotoxicol. Teratol.* 64, 37 (2017).
8. Hesselberg T., Vollrath F.: *Physiol. Behav.* 82, 519 (2014).
9. Tiepo E. N., Correa A. X. R., Resgalla C. Jr., Cotelle S., Ferard J. F., Radetski C. M.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 939 (2010).
10. Arora D. S., Ohlan D.: *J. Basic Microb.* 37, 159 (1997).
11. Barbero-Lopez A., Ochoa-Retamero A., López-Gómez Y., Vilppo T., Venalainen M., Lavola A., Julkunen-Tiitto R., Haapala A.: *Bioresources* 13, 6555 (2018).
12. Lekounougou S., Ondo J. P., Jacquot J. P., Nevers G., Gérardin P., Gelhaye E.: *Conference Gareth Williams Scholarship Award, Jackson, USA, 20.-24. 5. 2007, IRG/WP 07-30427*.
13. Ratajczak I., Wozniak M., Kwasniewska-Sip P., Szentner K., Cofta G., Mazela B.: *Eur. J. Wood Wood Prod.* 76, 775 (2018).
14. Kwasniewska-Sip P., Cofta G., Nowak P. B.: *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 132, 178 (2018).
15. Kwasniewska-Sip P., Bartkowiak M., Cofta G., Nowak P. B.: *Bioresources* 14, 1890 (2019).
16. Kobetičová K., Kočí V., Petříková M., Šimůnková K., Černý R.: *4<sup>th</sup> Central European Symposium on Building Physics (CESBP), September 2.-5. 2019, Prague-Czech Republic*, str. 282, Praha 2019.
17. Guerreira O., Mazzafera P.: *J. Chem. Ecol.* 26, 1447 (2000).
18. Mazzafera P.: *Front. Biosci.* 9, 1348 (2004).
19. Brand D., Pandey A., Roussos S., Soccol C.R.: *Enzym. Microb. Technol.* 27, 127 (2000).
20. Carrasco-Cabrera C. P., Bell T. L., Kertesz M. A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 5831 (2019).
21. Dash S. S., Gummadi S. N.: *Biotechnol. Lett.* 28, 1993 (2006).
22. Gutierrez-Sanchez G., Roussos S., Augur C.: *Folia Microbiol.* 58, 195 (2013).
23. Tesařová D., Hlavatý J., Čech P.: *Povrchové úpravy dřeva*. Grada Publishing a.s., Praha 2014.
24. Humar M., Zlindra D., Pohleven E.: *Build. Environ.* 42, 578 (2007).
25. Kwasniewska-Sip P., Doczekalska B., Bartkowiak M., Katolik Z., Cofta G.: *For. Wood Technol.* 95, 166 (2016).
26. Kamdem D. P., Pizzi A., Jermannaud A.: *Holz als Roh- und Werkstoff* 60, 1 (2002).
27. Lee S. H., Ashaari Z., Lum W. C., Abdul Halip J.,

Ang A. F., Tan L. P., Chin K. L., Md Tahir P.: *Constr. Build. Mater.* 181, 408 (2018).

**K. Kobetičová** (*Departments of Material Engineering and Chemistry, Faculty of Civil Engineering, Czech Technical University in Prague*): **Use of Caffeine as an Active Substance in Biocidal Coatings**

Caffeine is one of the most widely used stimulants in the world. It can also be added to various drinks, foods and cosmetics. Caffeine occurs naturally in plants, where it

performs a protective function against pests. This feature is also beginning to be used in the woodworking industry. This work summarizes the existing studies dealing with the use of caffeine as an active substance in biocides, its uptake and biodegradation by wood pests and its known interactions with wood and the possibilities of use.

Keywords: caffeine, biocides, methylxanthines, coatings

*Acknowledgements*

*This work was supported by the grant 19-02067S from the Czech Scientific Grant Agency.*