

# 去咖啡碱茶叶叶绿素提取及叶绿素铜钠盐制备

张 军<sup>1</sup>,郑国义<sup>1</sup>,丁松松<sup>2</sup>,王伟立<sup>3</sup>

(1.山东广通宝医药有限公司,山东 潍坊 262500;2.德仕能源科技集团股份有限公司,山东 东营 257029;

3.鲁东大学 化学与材料科学学院,山东 烟台 264039)

**摘要:**为了充分提取茶叶中的有效成分,本研究以提取完咖啡碱后的茶叶为原料,优化了提取叶绿素以及制备叶绿素铜钠盐的工艺条件。最终获得叶绿素提取以及叶绿素铜钠盐制备的最佳工艺条件如下。1) 叶绿素提取:90%乙醇为提取溶剂,提取温度 60 °C,提取时间 2 h,料液体积比 1:5。2) 叶绿素铜钠盐制备:50 °C 条件下,10%氢氧化钠水溶液调整 pH 值至 11,皂化 40 min;10%硫酸铜水溶液,50 °C 下铜化 1 h;10%氢氧化钠水溶液调整 pH 值至 12,于 50 °C 下成盐 1 h。使用此方法制备的叶绿素铜钠盐质量指标符合 GB 26406—2011 标准。因此,提取完咖啡碱后的茶叶,可继续进行叶绿素提取,并且当茶叶中的叶绿素被提取完后,剩余茶叶残渣仍可应用到农业肥料、养殖饲料中,为连续生产提供了可能。

**关键词:**去咖啡碱;茶叶;叶绿素;叶绿素铜钠盐

**中图分类号:**0629.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-8020(2025)02-0140-05

叶绿素铜钠盐是由叶绿素合成的钠铜络合物半合成混合物,叶绿素中心的镁原子被铜取代,失去了叶绿醇基。叶绿素铜钠盐比叶绿素具有多种优势,如更高的亲水性、着色性、对酸和光的稳定性更高。叶绿素铜钠盐是一种高稳定性的金属卟啉,呈墨绿色粉状,着色力强,色泽亮丽,无论是在食品添加<sup>[1]</sup>、纺织品<sup>[2-3]</sup>、化妆品<sup>[4]</sup>、光电<sup>[5-6]</sup>以及医学方面<sup>[7-12]</sup>都有着广泛的应用。本课题组通过调研发现,提取完咖啡碱后的茶叶,不仅可以用作农业肥料、养殖饲料等,也可以进一步提取其中的有效成分,比如叶绿素等,因此,去咖啡碱后的茶叶可应用到更广泛的领域。研究表明,茶叶中的叶绿素含量在 0.3%~0.8%,由于叶绿素属脂溶性物质,在水提取完咖啡碱后,大量的叶绿素分子仍被完整的保存在茶叶中,这就为后续叶绿素的提取留存了可能性。

现阶段,以提取完咖啡碱后的茶叶为原料,制备叶绿素铜钠盐的研究相对较少,因此,为了充分提取茶叶中的有效成分,本文对提取去咖啡碱茶叶中的叶绿素并制备叶绿素铜钠盐进行探索研究。叶绿素铜钠盐主体工艺主要有两种:铜化在前,皂化在后<sup>[13-14]</sup>;皂化在前,铜化在后<sup>[15-17]</sup>。通过前期对比实验验证得出,采用先皂化、后铜化

工艺,可保证制备的叶绿素铜钠盐的质量稳定性。

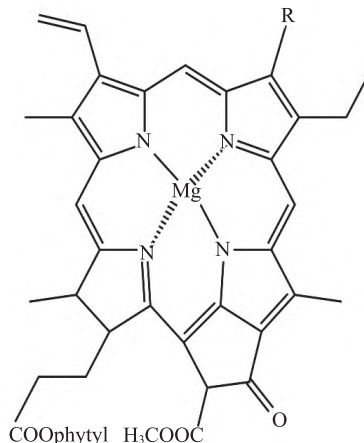


图1 叶绿素 a( $R=CH_3$ )和叶绿素 b的结构( $R=CHO$ )  
Fig.1 Chemical construction of chlorophyll a( $R=CH_3$ ) and chlorophyll b( $R=CHO$ )

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

本研究所用实验材料为提取完咖啡碱后的茶叶(取自四川某公司);所用试剂如下:纯化水(自

收稿日期:2024-08-08;修回日期:2025-01-06

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2022MB105)

通信作者简介:王伟立(1984—),男,讲师,博士,研究方向为有机合成。E-mail:wangweilishou@163.com

制)、乙醇、盐酸、氢氧化钠、正己烷、硫酸铜、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾等,以上所用试剂均为国产分析纯。

本研究所用仪器包括:UV-2600 紫外分光光度计(日本岛津公司)、RE 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、HJJ-1T 恒温水浴锅(常州丹瑞实验仪器设备有限公司)、AEG-220 电子分析天平(日本岛津公司)、循环水式多用真空泵(上海力辰邦西仪器科技有限公司)、真空干燥箱(南京沃环科技实业有限公司)、pH 计(上海精密科学仪器有限公司)、酒精计(河北省双明仪表厂)。

## 2 实验方法

### 2.1 叶绿素的含量测定

将提取完咖啡碱的茶叶经挑选、洗净、晾干处理,为方便叶绿素的提取,提前将茶叶进行粉碎处理,过 5 目筛。取不同批次粉碎后的茶叶,依据行业标准(NY/T 3082—2017)中的检测方法检测其叶绿素含量<sup>[18]</sup>。

### 2.2 叶绿素铜钠盐制备工艺

制备工艺流程如下:

叶绿素提取(液)→浓缩→皂化→正己烷萃取→酸化铜化→叶绿酸-铜络合物→过滤洗涤→水溶成盐→真空干燥→检测→成品。

#### 2.2.1 叶绿素提取(液)

以不同体积分数的乙醇为提取溶剂,对乙醇体积分数、提取温度、时间以及料液质量体积比等因素进行优化。

#### 2.2.2 皂化

浓缩至乙醇体积分数至 70%,为验证皂化反应的最佳温度、pH 值以及最佳时间,通过 10% 氢氧化钠调节 pH 值,由于叶绿素为绿色脂溶性物质,而叶绿素钠盐为水溶性物质,以此来判断反应是否完成。观察正己烷的颜色来进行判断,正己烷层颜色为绿色,说明反应不完全,正己烷层颜色为黄色,说明反应完全。

#### 2.2.3 酸化铜化

皂化完毕,静沉分得下层,用 10% 盐酸调 pH 值至 23,在一定温度下,将 10% 硫酸铜水溶液加入其中,保温反应。

#### 2.2.4 叶绿酸-铜络合物

铜化反应结束后,加入 0.5 倍量纯化水,此时有大量叶绿酸-铜络合物析出,过滤,纯化水洗涤掉未反应的硫酸铜以及反应过程中生成的盐。正己烷洗涤叶绿酸-铜络合物中的脂溶性物质,晾干,即得叶绿酸-铜络合物。

#### 2.2.5 成盐

向叶绿酸-铜络合物中,加入两倍量纯化水,搅拌状态下滴加浓度为 10% 的氢氧化钠水溶液,在一定温度下搅拌成盐。成盐完毕,转移至真空干燥箱内于 70 ℃ 下干燥,抽至叶绿素铜钠盐含水量 5% 以内,研磨得到墨绿色并具有金属光泽的叶绿素铜钠盐样品。叶绿素铜钠盐检测方法按照国标 GB 26406—2011 执行<sup>[19]</sup>。

## 3 结果与讨论

### 3.1 叶绿素的含量

用乙醇对提取完咖啡碱的三批次的茶叶进行充分提取,至茶叶接近无色,获得茶叶中叶绿素质量分数为(0.45±0.01)%。

### 3.2 叶绿素提取

由单因素实验发现,叶绿素提取率受提取溶剂体积分数(A)、提取温度(B)、提取时间(C)、料液体积比(D)等因素有关,以叶绿素提取率为研究指标,上述 4 个因素作为考察指标,每个指标选择 3 个水平,进行  $L_9(3^4)$  正交实验设计,以确定叶绿素提取的最佳工艺。实验设计因素与水平表见表 1,正交实验设计及结果见表 2。

表 1 正交因素水平表  
Tab.1 Orthogonal factors and levels table

水平	因素			
	A/%	B/℃	C/h	D
1	50	40	1	1:3
2	70	60	2	1:5
3	90	80	3	1:7

如表 2 所示,叶绿素提取率的影响因素由高到低为:乙醇体积分数、温度、时间、料液比。综合各因素的  $k$  值得出提取最优组合为  $A_3B_2C_2D_2$ ,即最终确定叶绿素提取工艺为:乙醇体积分数 90%,提取温度 60 ℃,提取时间 2 h,料液体积比 1:5。

表 2 正交试验设计及结果

编号	因素				提取率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	67.2
2	1	2	3	2	70.7
3	1	3	2	3	72.3
4	2	1	3	3	70.7
5	2	2	2	1	86.5
6	2	3	1	2	84.2
7	3	1	2	2	88.6
8	3	2	1	3	95.8
9	3	3	3	1	89.2
K <sub>1</sub>	70.07	75.50	82.40	80.97	
K <sub>2</sub>	80.47	84.33	82.47	81.17	极差分析最优:
K <sub>3</sub>	91.20	81.90	76.87	79.60	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>
R	21.23	8.83	5.60	1.57	

### 3.3 皂化参数优化

皂化反应受温度、pH 值、反应时间等因素影响,颜色判断完毕,再检测正己烷层中的叶绿素含量,发现无论 pH 值为 11 还是 12,叶绿素含量均趋近于 0(紫外图谱近乎为一条直线),根据实验成本考虑,pH 值无需再提高,以此来确定最佳反应条件。皂化参数优化结果见表 3。由表 3 可知,皂化影响因素的影响由大到小为:温度、时间、初始 pH 值。确定皂化最佳条件为:温度 50 ℃, pH 值 11,反应时间 40 min。

表 3 皂化反应影响因素

序号	温度/℃	pH 值	时间/min	正己烷层颜色
1	30	10	20	绿色
2	30	11	40	绿色
3	30	12	60	绿色
4	50	10	40	浅绿
5	50	11	40	黄色
6	50	12	40	黄色
7	70	11	60	黄色
8	70	12	20	浅绿
9	70	11	40	黄色

### 3.4 铜化

铜化反应受温度、反应时间影响,铜化过程检测吸光度比值,当吸光度比值在 3.23.8 时(为保证最终产品符合国标 GB 26406—2011 要求,将吸光度比值范围适当收缩),停止反应,结果如表 4 所示。由表 4 可知,70 ℃与 50 ℃下均可使反应彻底进行,考虑到安全因素以及叶绿素耐温因素,

最终确定最优铜化反应条件为:反应时间 2 h,温度 50 ℃。

表 4 铜化反应影响因素

序号	温度/℃	时间/min	吸光度比值
1	30	30	4.8
2	30	60	4.6
3	30	90	4.2
4	30	120	4.1
5	50	90	3.9
6	50	120	3.7
7	70	120	3.6
8	70	90	3.6

### 3.5 成盐

成盐反应受初始 pH 值、反应时间、反应温度等因素影响,成盐过程中检测成盐液体 pH 值,当 pH 值在 10.010.7(为保证最终产品符合国标 GB 26406—2011 要求,将 pH 值范围适当收缩),成盐结束(表 5),根据表 5 的数据,可以得出成盐影响因素的影响由大到小为:温度、时间、初始 pH 值。成盐最优条件为:温度 50 ℃,初始 pH 值 12,反应时间 60 min。

表 5 成盐影响因素

序号	温度/℃	初始 pH 值	时间/min	终点 pH 值
1	30	11	30	10.8
2	30	11	60	9.9
3	30	12	30	11.7
4	30	12	60	11.0
5	50	11	60	9.5
6	50	12	60	10.6
7	50	12	90	10.5
8	70	11	60	9.5
9	70	12	60	10.5

## 4 叶绿素铜钠盐的紫外吸收光谱图以及质量指标

### 4.1 叶绿素铜钠盐紫外吸收光谱

检测方法按照国标 GB 26406—2011 执行<sup>[19]</sup>,将叶绿素铜钠盐稀释到一定倍数,使用 UV-2600 紫外分光光度计在波长 300700 nm 进行光谱扫描,结果见图 2。叶绿素铜钠盐吸收峰在 405 与 630 nm 处,结果与文献报道一致<sup>[20-22]</sup>。

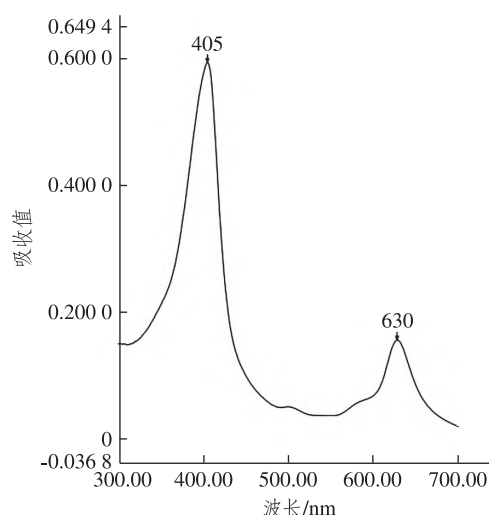


图2 叶绿素铜钠盐溶液的紫外吸收光谱

Fig.2 UV absorption spectra of sodium copper chlorophyllin solution

## 4.2 叶绿素铜钠盐质量指标

按照此工艺制备的叶绿素铜钠盐,呈具有金属光泽的墨绿色粉末状,易溶于纯化水(由于叶绿素铜钠盐呈碱性,在自来水中会与钙镁离子反应,析出沉淀),溶液呈蓝绿透明状。经测定,其主要质量指标项目符合国际标准 GB 26406—2011(表6)。

表6 叶绿素铜钠盐主要质量指标

Tab.6 Main quality indicators of sodium copper chlorophyllin

项目	GB 26406—2011	样品实测
pH 值	9.511.0	10.5±0.2
吸光度[ $E_{1\text{cm}}^{1\%}((405\pm 3)\text{nm})$ ]	≥568	575±3
吸光度比值	3.24.0	3.6±0.1
总铜(Cu)/%	≤8.0	7.5±0.1
游离铜(Cu)/%	≤0.025	0.017±0.005
干燥减量/%	≤5.0	3.7±0.3
总砷(以As计)/(mg·kg <sup>-1</sup> )	≤2	1±0.2
铅(Pb)/(mg·kg <sup>-1</sup> )	≤5	3±0.2
色泽	墨绿色	墨绿色
组织状态	粉末	粉末

## 5 结论

本研究以提取完咖啡碱的茶叶为原料,获得提取叶绿素并制备叶绿素铜钠盐的最佳工艺如下。1) 叶绿素提取:90%乙醇为提取溶剂,提取温度60℃,提取时间2h,料液体积比1:5。2) 叶绿素铜钠盐制备:50℃下,10%氢氧化钠水溶液调pH值至11,皂化40min;10%硫酸铜水溶液,50℃铜化2h;10%氢氧化钠水溶液调pH值

至12,50℃成盐1h。使用此方法制备的叶绿素铜钠盐质量指标符合GB 26406—2011标准。本研究结果表明,提取完咖啡碱后的茶叶,可进行叶绿素提取,并且剩余茶叶残渣仍可应用到农业肥料、养殖饲料中,为连续生产提供了可能。

## 参考文献:

- [1] 罗怀宇.叶绿素铜钠盐清新口气牙膏的研究[J].口腔护理用品工业,2014,24(4):18-19.
- [2] 王娜,杜远远,黄海东,等.叶绿素铜钠盐对羊毛、蚕丝和锦纶针织物染色[J].针织工业,2020(10):37-40.
- [3] 刘治梅.叶绿素铜钠盐在柞丝绸染色中的应用[J].辽宁丝绸,2018(3):3-4.
- [4] VAZQUEZ-ORTEGA F,LAGUNES I,TRIGONES A.Cosmetic dyes as potential photosensitizers of singlet oxygen generation[J].Dyes and Pigments,2020,176:108248.
- [5] TIAN H,JIANG X Q,LIU X T,et al.Enhancing performances of inverted perovskite solar cells by modifying the buried interface with sodium copper chlorophyllin[J].Nano Energy,2024,126:109616.
- [6] HABIBI E,ZAHEDIFAR M,SADEGHI E.Sodium copper chlorophyllin conjugated with Ag plasmonic nanoparticles as efficient nanostructure for application in photodynamic therapy[J].Journal of Luminescence,2024,273:120708.
- [7] SU C Y,TAO D H,REN L,et al.The effective role of sodium copper chlorophyllin on the dysfunction of bone marrow mesenchymal stem cells in multiple myeloma via regulating TGF-β1[J].Tissue and Cell,2020,67:101406.
- [8] DONG Y,CHEN Y M,KONG X J,et al.Rational design of an artificial hydrolyticnuclease by introduction of a sodium copper chlorophyllin in L29E myoglobin[J].Journal of Inorganic Biochemistry,2022,235:111943.
- [9] VINOD R S,SAJMINA K,AJINKYA M T,et al.Sodium copper chlorophyllin-loaded chitosan nanoparticle-based photodynamic therapy for B16 melanoma cancer cells[J].Chemical Biology & Drug Design,2024,104:14594.
- [10] SURYAVANSHI S V,GHARPURE M,KULKARNI Y A,et al.Sodium copper chlorophyllin attenuates adenine-induced chronic kidney disease via suppression of TGF-beta and inflammatory cytokines [J].Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology,2020,393:2029-2041.
- [11] CAIRES C S A,LEAL C R B,RAMOS C A N,et al.Photoinactivation effect of eosin methylene blue and chlorophyllin sodium-copper against *Staphylococcus*



- aureus* and *Escherichia coli* [J]. *Lasers in Medical Science*, 2017, 32: 1081–1088.
- [12] 符陆帅, 魏克民, 潘琦. 叶绿素铜钠盐对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织表皮生长因子受体表达的影响 [J]. *中国中医药科技*, 2020, 27(2): 207–211.
- [13] 李祥, 蔺旺梅, 李华锋, 等. 剑麻膏中叶绿素铜钠盐的制备及性能测定 [J]. *应用化工*, 2018, 47(2): 262–267.
- [14] 朱武成, 陈基东, 等. 剑麻叶绿素铜钠盐的制备和质量分析 [J]. *企业科技与发展*, 2008(22): 106–109.
- [15] 占汝真, 武健, 付成钰, 等. 由松针制取三种叶绿素钠盐及其稳定性的研究 [J]. *食品工业科技*, 2014, 5(6): 102–106.
- [16] 黄晓德, 钱骅, 赵伯涛. 西兰花叶叶绿素提取及叶绿素铜钠盐制备工艺研究 [J]. *中国野生动物资源*, 2007, 26(3): 45–47.
- [17] 洪军, 李倩, 张开放, 等. 韭菜叶绿素铜、锌钠盐的制备及稳定性研究 [J]. *中国调味品*, 2022, 47(5): 93–97.
- [18] 中华人民共和国农业部. 水果、蔬菜及其制品中叶绿素含量的测定分光光度法: NY/T 3082—2017 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
- [19] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准—食品添加剂叶绿素铜钠盐: GB 26406—2011 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [20] 向洪平, 葛鑫, 张亚萍, 等. 小叶榕叶绿素铜钠盐的制备和理化性质研究 [J]. *食品工业*, 2011, 32(1): 7–10.
- [21] 赖海涛, 苏国成, 卢华跃, 等. 紫菜叶绿素铜钠盐的制备及其稳定性研究 [J]. *湖北农业科学*, 2013, 52(3): 639–644.
- [22] 邓文灿, 朱僚辉. 松针叶绿素铜钠盐的制备 [J]. *山东化工*, 2001(4): 7–8.

## Extraction of Chlorophyll from Decaffeinated Tea Leaves and Preparation of Sodium Copper Chlorophyllin

ZHANG Jun<sup>1</sup>, ZHENG Guoyi<sup>1</sup>, DING Songsong<sup>2</sup>, WANG Weili<sup>3</sup>

(1. Shandong Guangtongbao Pharmaceuticals Co., Ltd., Weifang 262500, China; 2. Deshi Energy Technology Group Co. Ltd., Dongying 257029, China; 3. School of Chemistry and Materials Science, Ludong University, Yantai 264039, China)

**Abstract:** In order to fully extract the active components in tea, this study optimized the technological conditions of extracting chlorophyll and preparing sodium copper chlorophyllin from tea after extracting caffeine. The optimum technological conditions for the final extraction of chlorophyll and the preparation of sodium copper chlorophyllin are as follows. 1) chlorophyll extraction: extract with 90% ethanol at 60 °C for 2 h with solid-liquid ratio of 1 : 5. 2) preparation of sodium copper chlorophyllin: pH was adjusted to 11 using 10% NaOH, then saponification was carried out at 50 °C for 40 min; then 10% CuSO<sub>4</sub> was added for copperization at 50 °C within 1 h; pH was adjusted to 12 using 10% NaOH, to obtain the sodium salt at 50 °C for 1 h. The quality test indicates that the sodium copper chlorophyllin prepared by this method is consistent with the GB 26406—2011. Therefore, the tea leaves after extracting caffeine can continue to extract chlorophyll, and after the chlorophyll in the tea leaves is extracted, the remaining tea residue can still be used in agricultural fertilizers and breeding feeds, providing the possibility of continuous production.

**Keywords:** decaffeinated; tea; chlorophyll; sodium copper chlorophyllin