

茶叶中提取咖啡因实验改进与产物性质研究

摘要: 从茶叶中提取咖啡因是化学教学中经典的综合实验。在此实验中, 学生可综合学习运用萃取、蒸馏、升华等知识点, 这对于提高学生的综合实验能力具有重要意义。但传统实验方法存在耗时长、装置损耗大、试剂用量大、升华条件难以掌握等不符合绿色化学要求的弊端。据此, 本队改进茶叶中提取咖啡因的传统实验。主要创新点为: 1. 烧杯中 0.5% Na_2CO_3 水溶液 80 °C 浸提茶叶 20 min, 超声萃取 20 min, 萃取用时仅 40 min; 2. 萃取液加入二氯甲烷液液萃取分离提取咖啡因, 去除了大部分共存杂质和色素, 提高了升华产物纯度; 3. 茶叶用量 5 g, 有机溶剂用量 80 mL 且可回收再利用, 减少对环境的影响; 4. 升华装置操作简单, 条件稳定, 升华现象明显, 易于观察, 成功率高; 5. 增加了液液萃取和薄层色谱知识点并采用多种方法表征产物, 进一步加强了实验综合性。

关键词: 1 茶叶; 2 咖啡因; 3 液液萃取; 4 升华; 5 性质表征

Experimental improvement of extracting caffeine from tea leaves and study on product properties

Abstract: Extracting caffeine from tea leaves is a classic comprehensive experiment in chemistry teaching. This experiment is of great significance to improve students' comprehensive experimental ability. However, the traditional experiment has many disadvantages, such as long time consuming, large loss of equipment, large amount of reagent not meeting the requirements of environmentally benign chemistry and difficult to master the sublimation conditions. In order to overcoming the above disadvantages, our team carried out the following innovations: 1. Ultrasonic extraction in beaker and liquid-liquid extraction (LLE) in centrifugal tube were adopted, and continuous extraction device was abandoned. The experimental operation and device were simple, and the extraction time was only 40 min. 2. The extract was separated by liquid-liquid extraction of CH_2Cl_2 at pH10 to extract caffeine. The coexistence impurities and most pigments of caffeine are removed, and the interference of colored matter and impurities during sublimation is reduced. 3. The sublimation device has the advantages of simple operation, stable condition and easy to observe the sublimation phenomenon; 4. The knowledge points of liquid-liquid extraction were added in the experiment, and the products were characterized by traditional methods and modern instrument methods, which further strengthened the comprehensiveness of the experiment.

Key words: tea leaves; caffeine; liquid-liquid extraction; sublimation; property characterization

1 引言

1.1 背景

化学实验教学可使学生更形象生动地掌握原本枯燥无味的理论知识, 锻炼学生动手能力和创造能力, 最大限度地激发学生的学习兴趣。尤其是综合性实验能锻炼学生综合运用课程知识点解决实际问题的能力, 对学生主动学习和实践能力的培养具有重要意义。把新技术新方法融入传统实验中, 对实验方法、装置进行创新改进, 强化学生参与互动, 使之达到金课

“两性一度”的要求，是综合性实验创新改革的必由之路。

《从茶叶中提取咖啡因》是化学教学中经典的综合实验，通过实验学生可综合运用萃取、蒸馏、升华等理论知识和实验操作技能，深刻体会“物质的理化性质和实验目的是实验方法选择和实验条件设定的决定因素”的理念，实验结果可激发学生学以致用成就感。但传统经典实验中连续萃取方法试剂用量大，装置易损，实验耗时长，操作熟练的学生完成实验也需4小时。同时实验中还存在以下问题：（1）萃取浓缩液粘度高，加入生石灰吸水中和焙炒时会出现坚硬结块，难以破碎为粉末状，影响升华效果；（2）残渣中有色物质在升华过程中因高温会伴随咖啡因一起逸出，导致产物纯度不高；（3）升华温度控制难度大。教学实践中大部分学生难以在4学时内完成整个实验，实验效果差，学习兴趣大为降低。

1.2 目前该实验改进研究情况

针对该实验的不足目前有很多改进方法，包括采用微量装置减少茶叶用量^[1]；采用其他装置如恒压漏斗代替索氏提取器解决回流管易损的问题^[1-4]；采用其他材料如纱布、玉米纤维包代替索氏提取器滤纸筒解决滤纸筒折叠困难，茶叶漏出的问题^[5]；优化提取溶剂^[6-8]；采用蒸馏装置^[9]、微量升华仪^[10]为升华装置；升华加热装置改为电热套空气浴加热解决加热不稳定的问题^[11-12]；采用快速溶剂萃取仪进行萃取^[13]；加入碳酸钠提高萃取效率^[10,14]；增加生石灰用量更好地中和杂质及吸水^[15-16]；采用微波萃取^[17]、超声萃取替代连续萃取提高萃取效率^[18]等。上述方法都只侧重某一方面进行改进，未能系统地解决传统实验中的不足。

1.3 改进思路与做法

表1 改进做法及效果

内容	做法	改进效果
萃取	烧杯内 80℃ 0.5% Na ₂ CO ₃ 弱碱性水浸提、超声萃取 40min	装置操作简化，安全性好，时长缩短 2/3
净化	弱碱性条件下萃取液-二氯甲烷振荡离心液液萃取	操作简单，安全性好
蒸馏浓缩	减压旋蒸	时长缩短为 8 min，可回收 40% 二氯甲烷
升华	电热套沙浴装置加热	加热均匀，操作简化，现象明显，晶型好，纯度高，成功率高
	沿半径放射状倾斜打孔，毛刺向上	减缓气流上升速度，增加咖啡因升华气体与滤纸接触面积，使升华咖啡因大部分凝华在滤纸毛刺位置。
	提取实验熟练操作 3 h 以内	
总实验时长	表征实验：薄层色谱 30 min，紫外 10 min，红外 20 min 总时长 4h	

改进的新思路为：

- （1）采用新技术、装置，缩短实验时长，提高提取率和实验成功率；
- （2）升华前采用液液萃取方法进行净化，舍弃生石灰吸水中和步骤，省时安全，提高咖啡因纯度。

在不减少知识点、不改变实验目的的前提下，学生通过文献查阅了解茶叶中咖啡因及共存成分的理化性质、前人改进方法及样品前处理的前沿成熟技术，简化实验装置与步骤，采

用现代的超声波辅助提取和液液萃取方法, 改进了传统方法耗时长, 装置易损坏、操作复杂、升华条件不易掌握的缺点, 缩短实验时长, 提高实验成功率。学生可掌握较新的样品前处理方法, 巩固液固萃取、超声辅助萃取、液液萃取、蒸馏、升华等知识点和实验技能, 对今后专业课程学习中样品前处理的探究性学习大有裨益。具体改进实验做法及效果见表 1。

2 实验部分

2.1 实验原理

咖啡因是嘌呤的衍生物, 为弱碱性化合物, 通常存在于茶叶, 咖啡中。除咖啡因外茶叶中还含有茶多酚、蛋白质、多糖、纤维素、果胶、单宁酸、没食子酸、茶碱和可可碱。茶叶中的咖啡因及其主要共存成分的相关理化性质见表 2。

表 2 茶叶中咖啡因及其主要共存成分的相关理化性质

化合物名称	化学式	外观	溶解度 (水)	溶解度 (二氯甲烷)	升华温度
咖啡因	$C_8H_{10}N_4O_2$	白色针状晶体	$21.73 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ $182 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} (80^\circ\text{C})$	$182 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	120 – 178 °C
茶碱	$C_7H_8N_4O_2$	白色结晶	$8.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	不溶	/
可可碱	$C_7H_8N_4O_2$	白色单斜型针状结晶	$5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ $6.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} (100^\circ\text{C})$	不溶	290 – 295 °C
单宁酸	$C_{76}H_{52}O_{46}$	淡黄色棕色无定型粉末	易溶	不溶	/
没食子酸	$C_7H_6O_5$	白色结晶	$11.49 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ $333 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} (100^\circ\text{C})$	不溶	/
儿茶素 (绿茶)	$C_{15}H_{14}O_6$	无色晶体	微溶	不溶	/

*数据来源: Chemical Book

基于上述性质, 可将茶叶用 80 °C 0.5% Na_2CO_3 水溶液进行液固萃取, 茶叶中咖啡因及其主要共存成分萃取到水溶液中, 提取液经二氯甲烷液液萃取, 提取水溶液中游离的咖啡因, 去除主要共存杂质, 萃取液浓缩蒸干后残渣 150 – 170 °C 升华, 得到咖啡因结晶。

咖啡因具有紫外、红外吸收, 升华结晶可采用红外光谱、紫外光谱、薄层色谱进行定性表征。

提取实验流程图如图 1 所示。

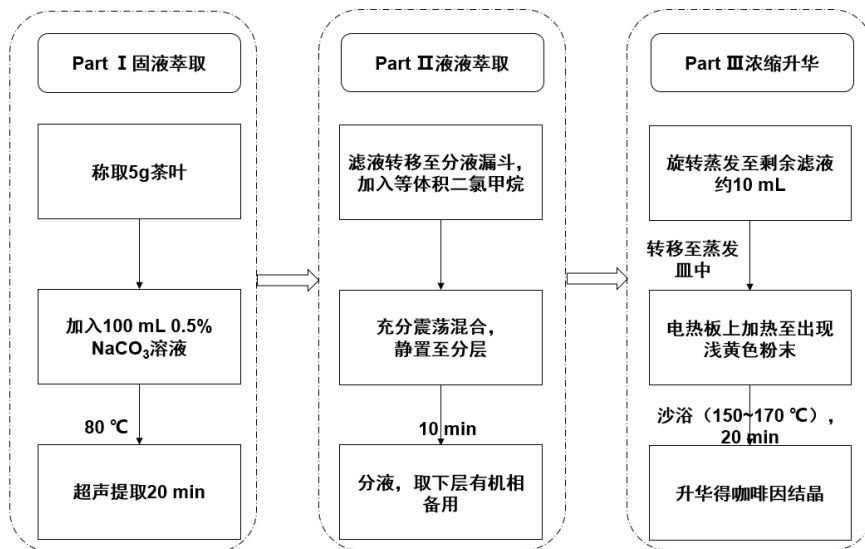


图 1 实验流程图

2.2 试剂及材料

本实验所需试剂及材料见表 3。

表 3 实验所需试剂及材料

试剂/材料名称	产家或来源	纯度或规格
咖啡因标准品	中科质检	99%
二氯甲烷	致远	分析纯
无水碳酸钠	永大	分析纯
无水硫酸钠	赫维化工	分析纯
三氯甲烷	新宁化工	分析纯
甲醇	西陇化工厂	色谱纯
环己烷	致远	分析纯
乙酸乙酯	致远	分析纯
浓氨水	赫维化工	分析纯
超纯水	自制	电阻率 18.2 MΩ·cm ⁻¹
碧螺春茶	市售 (本地 外地)	
红茶	市售	
棉签	市售	
定性滤纸	特种纸业有限公司	15 cm
硅胶 GF254 薄层层析板	乳山公司	5 × 10 cm

2.3 实验所需仪器设备及表征方法

2.3.1 实验仪器设备:

本实验所需仪器设备见表 4。

表 4 实验所需主要仪器及设备

仪器	品牌	型号	参数
红外光谱仪	Bruker	VERTEX 70	傅里叶光栅红外光谱仪
紫外光谱仪	尤尼柯	UV-2800	200 - 400 nm
电热板	TOP SCIENCE	AMM-12T	120℃
电热套	中兴伟业	ZDHW	1000 mL, 300 W, 加热电压: 50 - 220V
离心机	Anke	TDL-40B	最大离心转速 4000 r
涡旋振荡器	IKA		
旋转蒸发仪	IKA	RV8	
水浴锅	IKA	HB10	
手持式紫外光分析仪			波长 254, 369 nm
超声波清洗仪	洁福	410HT	50 HZ, 80℃
分析天平	Sartorius	CP225D	e=10d
不锈钢圆底小盆	市售		300 mL
烧杯	Titan		250 mL
漏斗			90 mm
蒸发皿			100 mm
洗瓶			
量筒	齿轮		10 mL, 100 mL
塑料滴管			3 mL
圆底烧瓶	IKA		300 mL
水银温度计			300℃
石棉网			15 cm
薄层层析缸			
微量进样针		平头	10 μ L

2.3.2 表征方法:

(1) **薄层色谱法:** 根据文献^[19-21]条件, 分别称取适量产物和咖啡因, 定容配制为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 甲醇溶液, 分别取 2 μL , 定量点样于硅胶 GF254 薄层板上, 分别在氯仿: 甲醇 (9 : 1)、环己烷: 乙酸乙酯: 浓氨水 (8 : 2 : 1d)、甲醇: 浓氨水 (9 : 1) 中展开, 254 nm 紫外光下观察。

(2) **红外光谱法:** 适量升华产物红外灯下干燥, KBr 压片法进行红外光谱扫描, 与咖啡因标样红外光谱比较, 并经红外光谱数据库检索, 确定产物是否为咖啡因。

(3) **紫外光谱法:** 称取适量升华产物配制成适宜浓度甲醇溶液, 220 - 400nm 扫描紫外吸收光谱, 观察升华产物紫外吸收光谱与咖啡因标样是否一致。

2.4 实验步骤

2.4.1 加热浸提

称取 5.00 g 茶叶于 250 mL 烧杯中, 加入 100 mL 超纯水, 0.50 g Na_2CO_3 , 电热板 80℃ 加热 20 min。

2.4.2 超声辅助萃取及升华装置准备

将烧杯移至超声清洗仪中以 50 Hz、80℃ 超声 20 min，倾出烧杯中褐色水溶液至 250 mL 烧杯中。同时开启电热套沙浴装置（图 2）加热电压，220 V 下加热 45 min 至沙浴锅沙子表面温度为 230℃。

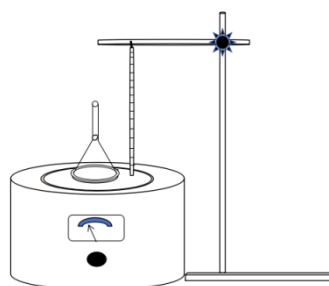


图 2 升华装置图

2.4.3 液液萃取

将溶液等分加入 6-8 支离心管中，置于 20℃ 水浴冷却至室温，分别加入 10 mL 二氯甲烷，涡旋振荡 30 s，随后 4000 r 离心 5min 至两相分层。

2.4.4 减压旋蒸

取出离心管，用滴管吸出上层水溶液弃去，将下层有机相转移至圆底烧瓶中，旋转蒸发器减压旋转蒸发（真空度 0.03 Mpa、转速 130 r/min、水浴温度 45℃）至圆底烧瓶中液体大约剩余 10 mL 时，停止旋蒸。

2.4.5 蒸干溶剂

剩余液体倾入 100 mm 蒸发皿中，用少量二氯甲烷荡洗圆底烧瓶，合并荡洗液于蒸发皿中。将蒸发皿置于电热板上，通风橱内 50℃ 下蒸发至干。

2.4.6 升华

关闭电热套加热电压，在一张圆形滤纸上沿半径放射状倾斜打孔，毛刺向上盖在蒸发皿上，将蒸发皿置于沙浴表面上，深度 1 cm，上面再倒扣一个大小合适的漏斗，漏斗颈部轻轻插入一团合适大小的脱脂棉或棉签，加热升华 30 min。待滤纸上出现白色针状结晶漏斗内壁白色烟消失后，取出蒸发皿及漏斗自然冷却。

2.4.7 收集产物

取下漏斗，轻轻揭开滤纸，用药匙仔细地把附在滤纸和漏斗上的白色晶体刮下，称重，计算提取率。

2.4.8 产物性质表征

称取产物适量，甲醇溶解定容后按 2.3.2 中所示方法进行薄层色谱、紫外光谱，红外光谱测定。

3 结果与讨论

3.1 装置的改进

3.1.1 改进滤纸打孔和覆盖方式，改善升华效果

多次实验发现滤纸打孔方式和升华毛刺朝向对升华结果影响较大。最终采用沿圆形滤纸径向倾斜打孔，升华时毛刺向上覆盖在蒸发皿上，可减缓气流上升速度，增加咖啡因升华气体与滤纸接触面积，使升华咖啡因大部分凝华在滤纸毛刺位置。升华产物晶型好，颜色洁白纯净，经过与随机打孔、毛刺向下的升华方式比较，提取率可提高 30% 以上。

3.1.2 简化升华操作，提高升华效果

将装满沙子的 300 mL 不锈钢圆底盆置于 300 w 电热套内搭建了电热套沙浴升华装置，设计优化了加热流程：实验时将电热套沙浴装置在 220 V 加热电压下加热 45 min 后停止加热，按 2.4.6 步骤方法进行模拟，测量得到加热时间与蒸发皿内底部温度变化关系曲线（如图 3 所示），根据变化曲线可知蒸发皿放入沙浴锅 10 min 后，经过 30 min 其底部温度均能稳定地处于 150 - 170℃ 之间，为咖啡因升华的适宜温度。改进后升华现象明显，每次实验均能获得纯白色咖啡因结晶，实验成功率为 100%。

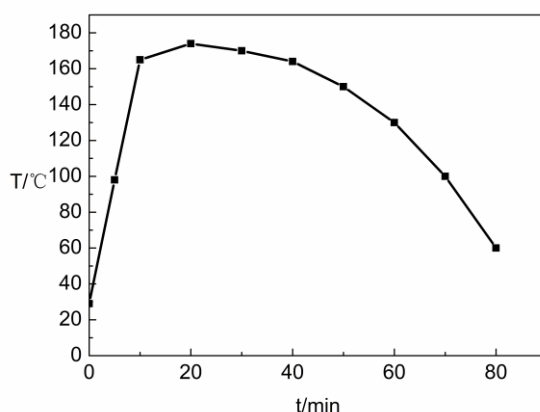


图 3 蒸发皿加热时间与蒸发皿内温度关系曲线

3.2 方法的改进

3.2.1 超声辅助液固萃取，缩短萃取时间。

根据咖啡因及其共存成分的性质，干茶叶浸泡吸水后叶片舒展利于物质的浸出，同时文献表明 Na_2CO_3 可增加咖啡因的溶出^[10]，最终选择 0.5% Na_2CO_3 (pH10) 水溶液 80℃ 温度浸泡干茶 20 min，然后超声辅助萃取浸提茶叶 20 min，加速萃取。全部萃取时间仅为原传统方法的 1/3。此时，咖啡因和水溶性共存成分被萃取到水溶液中，其中咖啡因及碱性成分如茶碱、可可碱等呈游离态、酸性成分如单宁酸、没食子酸成盐溶于水溶液中。

3.2.2 液液萃取净化，去除色素和杂质。

咖啡因在二氯甲烷中溶解度为 $182 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，远大于其在冷水溶液中的溶解度 $21.73 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 通过二氯甲烷振荡液液萃取，可有效快速将游离咖啡因萃取到有机相中，其他共存成分因在

二氯甲烷中不溶留在水相中，咖啡因得到分离纯化。二氯甲烷挥干后残渣颜色为浅草绿色，与其他提取方法相比色素明显减少。

3.2.3 减压旋蒸，缩短蒸馏时间，回收试剂。

二氯甲烷沸点较低，为 37.8℃，旋蒸温度选择 45℃，可快速、平稳蒸馏回收二氯甲烷。萃取液 80 mL 浓缩至 10 mL，旋蒸时间为 7-8 min，回收二氯甲烷 30 mL。

3.3 产物性质表征

3.3.1 薄层色谱法：

薄层板展开后，在 254 nm 紫外光下产物与咖啡因标样均为黄绿色荧光背景下棕褐色斑点（图 4），且形状、 R_f 值均一致（表 5），未出现其他斑点，说明升华产物为咖啡因，无其他杂质。

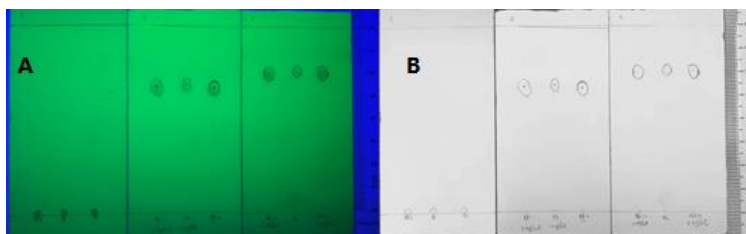


图 4 薄层层析照片（A.254nm 下 B.标记后可见光下。斑点从左到右分别为绿茶升华产物、咖啡因标样、红茶升华产物）

表 5 薄层色谱展开结果

展开系统	R_f 值		
	红茶升华产物	碧螺春升华产物	咖啡因标样
氯仿：甲醇（9：1）	0.75	0.75	0.75
环己烷：乙酸乙酯：浓氨水（8：2：1d）	0.013	0.013	0.013
甲醇：浓氨水（9：1）	0.67	0.68	0.68

注：展开时室温 20℃，湿度 73%，天气阴

3.3.2 紫外光谱法：

样品甲醇溶液与咖啡因标样甲醇溶液紫外光谱一致（见图 5）。

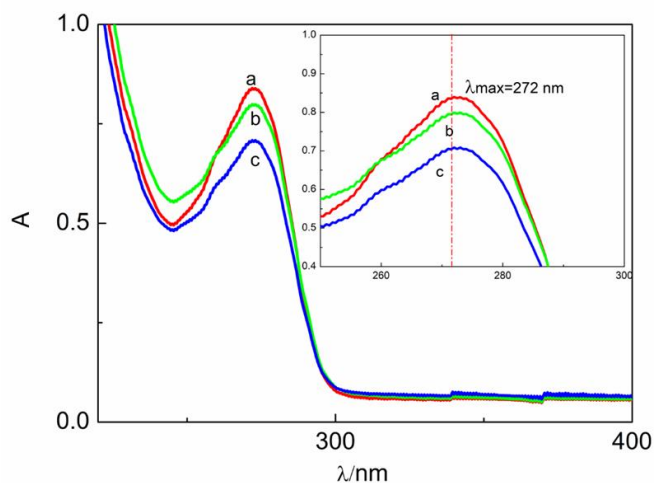


图 5 产物与咖啡因标样紫外光谱比较图(a. 标准品 b. 绿茶提取物 c. 红茶提取物)

3.3.3 红外光谱法:

升华产物结晶及咖啡因标样经干燥、研磨，KBr 压片法测定红外吸收光谱，两者特征吸收峰峰形、峰位完全一致，且数据库检索为咖啡因（见图 6）。

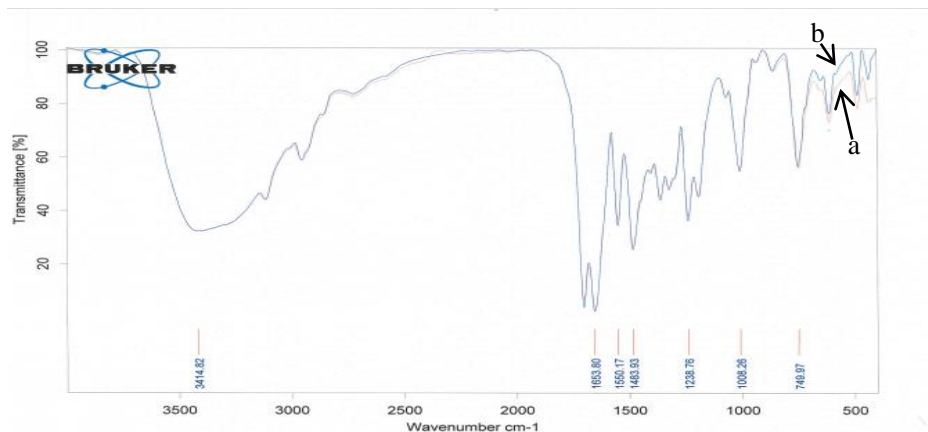


图 6 咖啡因标样与升华产物红外光谱比较图 (a. 标样 b. 碧螺春升华产物)

结语

本队对茶叶中提取咖啡因的实验进行了系统改进，采用 80℃ 水溶液超声辅助快速液固萃取，巧妙利用了咖啡因及其共存成分的理化性质，采用液液萃取方法进行分离净化，改进了升华装置，简化升华操作，稳定升华温度，提取实验时长缩短至 3 h。装置与操作简单，材料、试剂用量少，二氯甲烷可回收利用，减少对环境的影响，提取率较高且稳定在 0.40% - 1.06% 之间（见表 6）。

实验中发现液液萃取中两相常会出现乳化层，会产生损失。今后实验需要考察振荡时间与乳化层出现的关系，选择适当的振荡时间和破乳方法，同时今后的改进还可考虑选择微波萃取方法进行萃取。

表 6 不同茶叶提取率

茶叶种类	用量 (克)	产物质量(mg)	提取率 (%)	平行实验数
红茶	5.00	20 - 30	0.40 - 0.60	3
碧螺春 (本地)	5.00	41 - 44	0.82 - 0.88	3
碧螺春 (外地)	5.00	46 - 53	0.92 - 1.06	3

5 创新性/特点/特色声明

- (1) 拓展了实验教学内容，丰富了性质研究方法。
- (2) 实验时长短，实验成功率高；培养学生创新理念，启发科研兴趣。
- (3) 设备简单、廉价、易操作、实验运行稳定可靠；成本低廉、重现性好，适宜推广普及。

参考文献

- [1]张占吉,穆素珍,许明远,闫宏远. 保定师范专科学校学报,2004,(04):26-27.
- [2]于志伟,王芳. 中国教育技术装备,2010,(36):137-138.
- [3]徐帅,李焯,王莹莹,潘祖亭. 当代化工,2013,42(10):1364-1366.
- [4]赵秀琴,向乾坤. 黑龙江农业科学,2012,(09):100-101.
- [5]郭叶,郝鹤. 包头医学院学报,2017,33(04):111-112+118.
- [6]石刚. 三峡大学学报(人文社会科学版),2017,39(S1):265-266.
- [7]罗冬冬,许彬彬. 中南民族大学学报(自然科学版),2003,(03):22-23.
- [8]侯海山,王振海,王蔚,侯杰. 信阳师范学院学报(自然科学版),1994,(02):173-176.
- [9]刘志民. 广州化工,2012,40(24):106-107.
- [10]任小雨,张琴芳,王天利. 实验室科学,2020,23(02):9-11.
- [11]洪丽雅. 实验室科学,2007,(01):80-81.
- [12]刘立增,孟宪昉,郭俊杰. 实验室科学,2015,18(05):74-76.
- [13]潘玉珍,蔡靖雯,曾敏,范文杰,谭大志. 化学教育,2015,36(08):28-30.
- [14]刘恺,万丽. 科技与生活, 2012 (18) :152+103
- [15]李芬芳,李改仙. 海南师范大学学报(自然科学版),2015,28(01):59-60.
- [16]王船英. 赤峰学院学报(自然科学版),2016,32(13):41-42.
- [17]李琴. 湖北林业科技,2011,(04):29-31.
- [18]高静,田语林. 牡丹江学院学报, 2004, 25(6): 47.
- [19]Claudia. O.;Jacob S.;Wolfgang S. *Journal of chromatography, A*: 2018, 1533:208-212.
- [20]Conine, F.; Paul, J. *Microchimica Acta*, 1974, 62(3):443-448.
- [21]舒晓南, 高铁山,刘霞. 刑事技术, 1992, 000(003):11-14.