

## 老熟莲子壳多酚的树脂法纯化及稳定性研究

马双双, 刘莹, 陈中惠, 黄文, 王益\*

华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070

**摘要:**通过吸附和解吸实验确定柱层析分离和纯化莲子壳多酚的大孔树脂及工艺参数,并对莲子壳多酚的稳定性进行研究。结果表明:AB-8树脂最适合于莲子壳多酚的分离纯化,最佳工艺条件为:上样浓度 4.5 mg/mL,上样速度 0.5 mL/min,水洗至无糖后,以 50% 的乙醇洗脱,洗脱流速 2 mL/min,洗脱体积 4 BV,在此条件下,莲子壳多酚纯度达 69.34%。莲子壳多酚的稳定性受光、温度和 pH 影响,温度越高,光照越强,碱性越强,降解程度越大。 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  这 6 种离子对莲子壳多酚具有显著的破坏作用。

**关键词:**莲子壳;多酚;大孔树脂;纯化;稳定性

中图分类号:TS209

文献标识码:A

## Purification and Stability of Polyphenols from Ageing Lotus Seed Epicarp

MA Shuang-shuang, LIU Ying, CHEN Zhong-hui, HUANG Wen, WANG Yi\*

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract:** In this study, the static adsorption and desorption properties of six macroporous resins were compared for the purification of lotus seed epicarp polyphenols (LSEPPs). The purification conditions of the most suitable macroporous resin were optimized. In addition, the stabilities of LSEPPs were also investigated. The results indicated that AB-8 resin had the optimal adsorption and desorption performance. The optimal adsorption conditions with AB-8 macroporous resin were determined as follows: solution concentration of 4.5 mg/mL, feeding rate of 0.5 mL/min, and the optimal desorption conditions with AB-8 macroporous resin were ethanol concentration of 50%, elution rate of 2 mL/min, elution volume of 4 BV. Under these conditions, the purity of LSEPPs was 69.34%. The stabilities of LSEPPs were improved by low temperature, light-avoiding and mildly acidic conditions.  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  had destructive effect on LSEPPs.

**Key words:** lotus seed epicarp; polyphenols; macroporous resin; purification; stability

莲子壳 (Lotus seed epicarp) 是睡莲科植物莲 (*Nelumbo nucifera*, Gaertn.) 种子的壳。莲子壳在自然成熟过程中伴随着由绿到褐、由软到硬的变化,新鲜莲子壳呈鲜绿色,质地软,老熟莲子壳呈红褐色,质地坚硬,老熟莲子壳是湘莲加工副产物,资源丰富,但未被充分利用。近年来,莲子壳活性成分的研究逐渐引起学者的重视。已有文献报道新鲜莲子壳富含单宁、黄酮、原花青素等多酚类化合物<sup>[1,2]</sup>; Chen 通过 HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> 从新鲜莲子壳中鉴定出 17 种黄酮类物质<sup>[3]</sup>;新鲜莲子壳提取物具有抑制脂肪细胞分裂<sup>[4]</sup>、抗黑色素瘤<sup>[2]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup> 等功能。但是,新鲜莲子壳不易获得且不易存放,所以本研究以老熟莲子壳为原料,通过静态吸附与解吸实

验筛选出适合莲子壳多酚吸附分离的大孔树脂,通过动态吸附与解吸实验确定莲子壳多酚纯化的工艺参数,并研究光、温度、pH、金属离子对莲子壳多酚稳定性的影响,以期提高莲子壳的利用率,为后期产品的开发提供理论基础。

## 1 材料与amp;方法

## 1.1 材料、试剂与仪器

湘莲莲子壳(老熟),收集于武汉市洪湖;AB-8,天津南开化工厂;DM10、DM21、DM130,山东鲁抗立科药物化学有限公司;HPD-100、D101,沧州宝恩吸附材料科技有限公司;一水合没食子酸、钨酸钠、钼酸钠、硫酸锂、无水碳酸钠、无水乙醇、柠檬酸、磷酸二氢钾、溴水,国药集团化学试剂有限公司;所有试剂均为分析纯。

HH-S4 型数显恒温水浴锅,金坛市医疗仪器厂;

SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;BETA 2-8 LD plus 型冻干机,德国 MARTIN CHRIST 公司;RE-2000A 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;UV-1700 型紫外分光光度计,日本岛津公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 莲子壳多酚提取流程

莲子壳→粉碎→过 100 目筛→乙醇热回流提取→抽滤→真空浓缩→真空冷冻干燥→莲子壳多酚粗提物。

### 1.2.2 多酚含量的测定

以一水合没食子酸为标准品,采用 Folin-Ciocalteus 法<sup>[6]</sup>测定多酚含量,多酚含量用质量浓度(mg/mL)表示。

### 1.2.3 大孔树脂的预处理

大孔树脂用 95% 的乙醇在室温下密封浸泡 24 h,蒸馏水冲洗至无白色浑浊,然后加入 5% NaOH 溶液浸泡 4 h,蒸馏水洗至中性,再用 5% HCL 溶液浸泡 4 h,蒸馏水洗至中性,三次酸碱处理后备用。

### 1.2.4 大孔树脂的筛选

#### 1.2.4.1 大孔树脂静态吸附曲线的绘制

准确称取经过预处理且用滤纸吸干表面水分的树脂各 5 g ± 0.01 g,分别置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入相同浓度的莲子壳多酚粗提液 50 mL,避光密封,置于恒温振荡器中充分吸附 8 h(25 °C, 120 rpm),每隔 1 h 从上清液中取样,测定上清液中莲子壳多酚的含量,计算吸附率,绘制不同树脂的静态吸附曲线<sup>[7]</sup>。

$$\text{吸附率 } A(\%) = [(C_0 - C_i) / C_0] \times 100\%$$

式中:A 为吸附率,% ;C<sub>0</sub> 为粗提液中多酚的起始浓度,mg/mL;C<sub>i</sub> 为吸附第 i 小时后粗提液中多酚的浓度,mg/mL。

#### 1.2.4.2 大孔树脂的静态解吸曲线的绘制

将充分吸附的树脂滤出,用滤纸吸干表面残余样液,分别置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 50 mL 50% 的乙醇溶液,避光密封,置于恒温振荡器中解吸 3 h(25 °C, 120 rpm),每隔 0.5 h 从解吸液中取样,测定解吸液中多酚的含量,计算解吸率,绘制不同树脂的静态解吸曲线。

$$\text{解吸率 } D(\%) = [C_j / (C_0 - C_e)] \times 100\%$$

式中:D 为洗脱率,% ;C<sub>j</sub> 为解吸第 j 小时解吸液中多酚浓度,mg/mL;C<sub>0</sub> 为粗提液中多酚的起始浓度,mg/mL;C<sub>e</sub> 为吸附平衡时粗提液中多酚的浓

度,mg/mL。

### 1.2.5 AB-8 树脂对莲子壳多酚的动态吸附和解吸

#### 1.2.5.1 AB-8 树脂对莲子壳多酚的动态吸附

取经过预处理的 AB-8 树脂 40 mL,湿法装住,不同浓度的莲子壳多酚粗提液以不同流速上柱,分管收集流出液并检测多酚含量,当流出液中多酚浓度是上样浓度的 1/10 时,停止上样,计算吸附量,考察上样浓度、上样速度对莲子壳多酚吸附效果的影响。

$$\text{动态吸附量 } Q(\text{mg/mL}) = [(C_0 - C) \times V] / W$$

式中:C<sub>0</sub>:莲子壳多酚粗提液的起始浓度,mg/mL;C:流出液中多酚的浓度,mg/mL;V:流出液总体积,mL;W:树脂体积,mL。

#### 1.2.5.2 AB-8 树脂对莲子壳多酚的动态解吸

以最适的样液浓度、速度上样,蒸馏水洗脱除去大分子杂质后,分别用不同浓度的乙醇以不同速度进行解吸,分管收集洗脱液,测定洗脱液中多酚含量,计算解吸率,考察乙醇浓度、洗脱速度、洗脱体积对莲子壳多酚解吸效果的影响<sup>[8]</sup>。

$$\text{动态解吸率}(\%) = [(C \times V) / (Q \times W)] \times 100\%$$

式中,C:洗脱液中莲子壳多酚浓度,mg/mL;V:洗脱总体积,mL;Q:动态吸附量,mg/mL;W:树脂体积,mL。

### 1.2.6 莲子壳多酚稳定性的研究

利用最佳的纯化工工艺获得的莲子壳多酚解吸液,经旋转蒸发、冷冻干燥后得莲子壳多酚粉末。配制莲子壳多酚样液,考察光照、温度、pH 和金属离子对其稳定性的影响<sup>[9]</sup>。光照、温度和 pH 对莲子壳多酚稳定性的影响通过处理前后多酚含量的变化来表示,金属离子对莲子壳多酚稳定性的影响通过处理前后样液在 280 nm 处吸光值的变化来表示。

$$\text{多酚保存率}(\%) = \rho_1 / \rho_0 \times 100\%$$

式中,ρ<sub>0</sub> 为处理前多酚浓度,μg/mL;ρ<sub>1</sub> 为处理后多酚浓度,μg/mL。

$$\text{吸光值的变化} = OD_i - OD_0$$

式中,OD<sub>0</sub> 为样液初始时候的吸光值;OD<sub>i</sub> 为样液放置第 i 小时的吸光值。

## 2 结果与分析

### 2.1 大孔树脂的筛选

#### 2.1.1 不同树脂的静态吸附性能比较

大孔吸附树脂是以吸附性和筛选性原理相结合的一种表面吸附剂。其吸附能力的大小与树脂的极

性、比表面积、孔径、孔容、能否与被吸附物形成氢键等因素有关。本实验所选择的 DM10、AB-8、HPD-100、DM21、DM130、D101 树脂的静态吸附过程如图 1 所示。

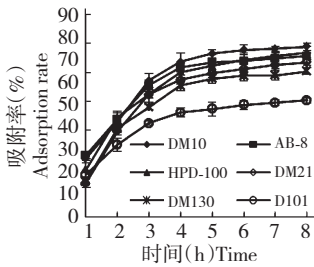


图 1 不同树脂的静态吸附曲线

Fig. 1 Static adsorption curve of different resins

由图 1 可知,不同树脂具有不同的静态吸附特征,吸附速率均随吸附时间的延长逐渐减小。0~4 h,树脂的静态吸附率随吸附时间的延长而增大,4 h 后,吸附趋于饱和。DM10、AB-8、HPD-100、DM21、DM130、D101 树脂的静态饱和吸附率分别为 73.6%、71.7%、70.1%、67.4%、65.4%、56.1%。DM10、AB-8、HPD-100 的吸附效果较好,吸附率均达到 70%。

### 2.1.2 大孔树脂的静态解吸性能比较

DM10、AB-8、HPD-100、DM21、DM130、D101 树脂的静态解吸过程如图 2 所示。

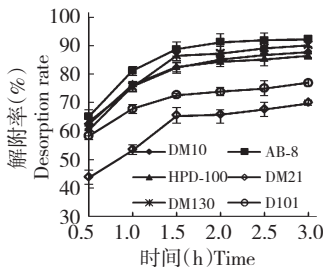


图 2 不同树脂的静态解吸曲线

Fig. 2 Static desorption curve of different resins

由图 2 可知,6 种树脂的解吸率存在先增加后平衡的趋势,在 1.5 h 均能完全解吸。此时,AB-8、DM130、HPD-100、DM10、D101、DM21 树脂的静态解吸率依次为 88.8%、86.5%、82.5%、82.3%、72.7%、65.3%。AB-8、DM130 解吸效果相对较好,DM21、D101 树脂的解吸率明显低于另外 4 种树脂,不适合于莲子壳多酚的纯化。

静态吸附和解吸实验表明,虽然 AB-8 树脂的静态吸附率略低于 DM10,但其解吸率最大,综合考虑树脂的静态吸附和解吸能力,得出 AB-8 树脂对

莲子壳多酚具有较强的选择性,且易回收,最适合于莲子壳多酚分离纯化。

## 2.2 AB-8 树脂的动态吸附和解吸实验

### 2.2.1 上样浓度对吸附量的影响

调节上样速度 0.5 mL/min,测定不同上样浓度条件下 AB-8 树脂对莲子壳多酚的吸附量,结果如图 3 所示。

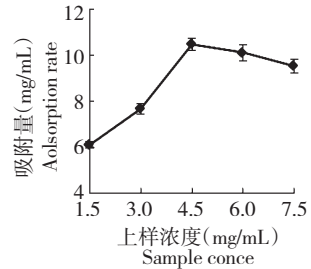


图 3 上样浓度对吸附量的影响

Fig. 3 Effect of concentration of LSEPPs on adsorption capacity

由图 3 可知,随着上样浓度的增加,AB-8 树脂对莲子壳多酚的吸附量呈现先增加后减少的趋势。当样液浓度为 1.5 mg/mL 时,AB-8 树脂的吸附量仅为 6.1 mg/mL;当样液浓度提高到 4.5 mg/mL 时,AB-8 树脂的吸附量为 10.47 mg/mL。这是因为当样液浓度较低时,随样液浓度的增加,可吸附物质的量增加,因此,AB-8 树脂的吸附量逐渐增加。但是,随着样液浓度的继续增大,与多酚竞争吸附的杂质量增加,在流速一定的条件下,莲子壳多酚在 AB-8 树脂内部扩散能力下降,从而导致树脂吸附量有所下降。因此,上样浓度选择 4.5 mg/mL。

### 2.2.2 上样速度对吸附量的影响

调节上样浓度 4.5 mg/mL,测定不同上样速度条件下 AB-8 树脂对莲子壳多酚的吸附量,结果如图 4 所示。

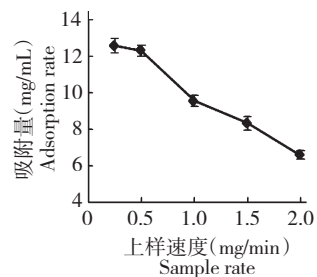


图 4 上样速度对吸附量的影响

Fig. 4 Effect of feeding rate on adsorption capacity

由图 4 可知,随着上样速度的增大,AB-8 树脂对莲子壳多酚的吸附量逐渐减少。当上样速度由

0.25 mL/min 增大到 2 mL/min 时,吸附量由 12.57 mg/mL 降低到 6.59 mg/mL。这是因为上样速度增大的过程中,多酚类物质未来得及在树脂上充分吸附便流出树脂柱。虽然,较低的流速有利于充分吸附,但是,流速过低会延长工作时间,降低工作效率。当上样速度为 0.25 mL/min 时,吸附量为 12.57 mg/mL,当上样速度为 0.5 mL/min 时,吸附量为 12.30 mg/mL。从提高生产效率角度考虑,选择 0.5 mg/mL 的速度进行上样吸附。

### 2.2.3 乙醇浓度对解吸效果的影响

调节上样浓度 4.5 mg/mL、上样速度 0.5 mL/min、洗脱速度 2 mL/min、洗脱体积 4 BV,测定不同乙醇浓度条件下 AB-8 树脂对莲子壳多酚的解吸率,结果如图 5 所示。

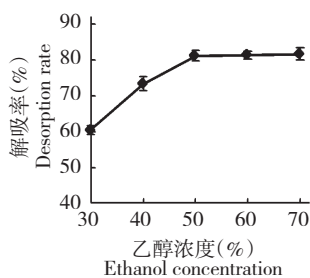


图 5 乙醇浓度对解吸效果的影响

Fig. 5 Effect of concentration of ethanol on desorption rate

由图 5 可知,当乙醇浓度小于 50% 时,莲子壳多酚在 AB-8 树脂上的解吸率逐渐增大,继续增大乙醇浓度,解吸率无明显变化。因为不同浓度的乙醇具有不同的极性,具有不同的洗脱能力。因此,选择 50% 的乙醇做为洗脱剂,此条件下,解吸率为 81.21%。

### 2.2.4 洗脱速度对解吸效果的影响

调节上样浓度 4.5 mg/mL、上样速度 0.5 mL/

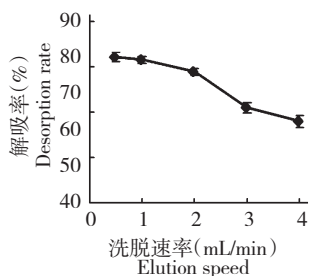


图 6 洗脱速度对解吸效果的影响

Fig. 6 Effect of elution speed on desorption rate

min、乙醇浓度 50%、洗脱体积 4BV,测定不同洗脱速度条件下 AB-8 树脂对莲子壳多酚的解吸率,结果如图 6 所示。

由图 6 可知,AB-8 树脂对莲子壳多酚的解吸率与洗脱速度存在反比例关系。当洗脱流速由 0.5 mL/min 增大到 4 mL/min 时,解吸率由 82.23% 降为 68.05%。因为洗脱流速增大,洗脱剂未来得及与吸附在树脂上的多酚充分接触,使其不能将多酚从吸附位点上完全置换出来。选择合适的洗脱流速对于洗脱效果和工业生产效率的提高均有一定的影响。当洗脱流速从 0.5 mL/min 增大到 2 mL/min 时,解吸率变化不大,因此,选择 2 mL/min 的流速进行洗脱。

### 2.2.5 洗脱体积对解吸效果的影响

调节上样浓度 4.5 mg/mL、上样速度 0.5 mL/min、乙醇浓度 50%、洗脱速度 2 mL/min,测定不同洗脱体积条件下 AB-8 树脂对莲子壳多酚的解吸率,结果如图 7 所示。

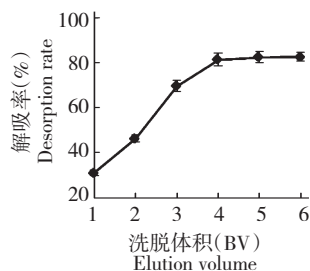


图 7 洗脱体积对解吸效果的影响

Fig. 7 Effect of elution volume on desorption rate

由图 7 可知,1~4 BV,乙醇对莲子壳多酚的洗脱能力存在剂量效应关系,1 BV 时,解吸率仅有 30.98%,4 BV 时,解吸趋于平衡,解吸率达到 82.72%,继续增大乙醇用量,解吸率无明显增加。从节约成本考虑,选择洗脱剂体积为 4 BV。

## 2.3 莲子壳多酚稳定性的研究

### 2.3.1 光照对莲子壳多酚稳定性的影响

将莲子壳多酚样液分装于透光性良好的具塞试管中,试管平均分成 3 组,第 1 组置于室外,进行阳光直射;第 2 组置于室内,避免阳光直射;第 3 组置于黑暗处,避免与光源接触。每隔 1 d 分别测定 3 组试管中的多酚含量,连续测定 8 d,结果如图 8 所示。

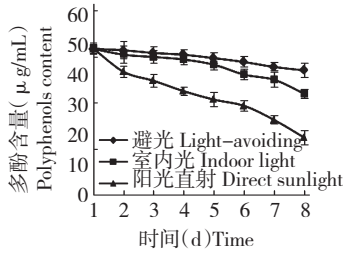


图8 光照对莲子壳多酚稳定性的影响

Fig. 8 Effect of light on stability of LSEPPs

由图8可知,莲子壳多酚对光较敏感。在避光、室内光、室外阳光直射条件下,随着放置时间的延长,多酚含量均呈下降趋势且下降程度依次增大。同时,样液颜色随放置时间的延长发生不同程度的变化,避光处理条件下无明显变化,室内光和室外阳光直射条件下的样液颜色逐渐变红,且后者变红更加明显。第8 d时,避光、室内光、室外阳光直射条件下的多酚保存率分别为91.00%、81.13%、62.67%。由此可见,莲子壳多酚在生产和加工过程中应减少与光源的接触。

### 2.3.2 温度对莲子壳多酚稳定性的影响

将莲子壳多酚样液分装于透光性良好的具塞试管中,试管平均分成5组,分别放到4、25、37、50、75、100℃恒温水浴锅中。每隔2 h分别测定5组试

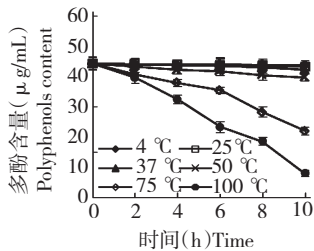


图9(a) 温度对莲子壳多酚稳定性的影响

Fig. 9(a) Effect of temperature on stability of LSEPPs

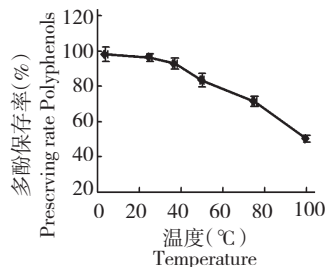


图9(b) 不同温度处理10 h后莲子壳多酚的保存率

Fig. 9(b) Preserving rate of LSEPPs at different temperature after staying 10 h

管中的多酚含量,连续测定10 h,结果如图9(a)和9(b)所示。

由图9(a)和9(b)可知,温度对莲子壳多酚的稳定性具有显著影响。在不同温度条件下,随着加热时间的延长,多酚含量均有不同程度的降低。保温10 h后,4、25、37、50、75、100℃条件下的多酚保存率依次为98.3%、96.4%、92.9%、83.6%、71.5%、50.2%。由此可见,随着温度的升高,多酚的热降解速度增大;当温度超过50℃时,降解速度明显加快,100℃条件下加热10 h后,保存率仅剩一半。因此,多酚热稳定性差,低温更有利于其保存。

### 2.3.3 pH对莲子壳多酚稳定性的影响

分别配制pH为2、4、6、8、10的缓冲溶液,加入等量的莲子壳多酚粉末,充分溶解后置于37℃恒温水浴锅中,保温2 h后测定多酚含量,结果如图10所示。

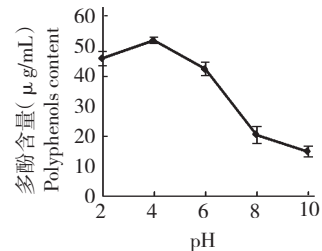


图10 pH对莲子壳多酚稳定性的影响

Fig. 10 Effect of pH on stability of LSEPPs

由图10可知,当溶液pH在2.0~6.0范围内,多酚含量变化不大,且pH为4.0时多酚含量最高;当溶液pH呈碱性时,多酚含量显著下降,碱性越强,多酚破坏程度越大。样液颜色亦随着pH的增大而加深,pH为10.0时,样液呈橘红色。由此可见,莲子壳多酚在弱酸性条件下比较稳定,对于多酚及其产品的使用和加工应在弱酸条件下进行。

### 2.3.4 金属离子对莲子壳多酚稳定性的影响

分别配制浓度为0.05 mg/mL的 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Al^{3+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Sn^{2+}$ 溶液,加入等量的莲子壳多酚粉末,振荡溶解后,置于37℃恒温水浴锅中,每隔1 h测定不同离子样液(上清液)在280 nm处的吸光值,连续测定4 h,结果如图11所示。

由图11可知,随着放置时间的延长,含有不同金属离子的多酚样液的吸光值和颜色发生不同程度的变化。 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 这6种离子存在时,多酚样液的吸光值和颜色与空白组无差

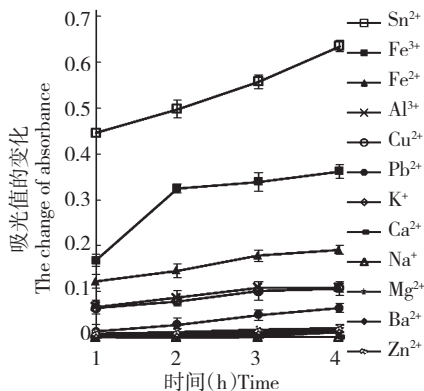


图 11 金属离子对莲子壳多酚稳定性的影响

Fig. 11 Effect of metal ions on stability of LSEPPs

异,因此,对多酚的稳定性无影响。 $\text{Sn}^{2+}$ 对莲子壳多酚的影响最为显著, $\text{Sn}^{2+}$ 加入后,溶液立即变浑浊,有黄色絮状沉淀产生,且随放置时间延长沉淀量增加; $\text{Fe}^{3+}$ 加入后,多酚样液由浅黄色变成蓝黑色,并出现少量墨绿色絮状沉淀; $\text{Fe}^{2+}$ 加入后,多酚溶液由浅黄色变为蓝黑色,无肉眼可见沉淀产生; $\text{Al}^{3+}$ 加入后样液黄色加深,同时出现少量浅黄色絮状沉淀; $\text{Pb}^{2+}$ 加入后,溶液变浑浊,并产生少量浅黄色絮状沉淀; $\text{Cu}^{2+}$ 加入后,样液黄色加深,无沉淀产生。由此可见, $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 离子对莲子壳多酚具有明显的破坏作用,在多酚的制备、保存和使用中,应尽量避免与这6种离子接触。

### 3 结论

通过 AB-8、HPD-100、D101、DM10、DM21、DM130 这6种树脂的静态吸附和解吸动力学实验确定 AB-8 树脂吸附量大且易解吸,是莲子壳多酚分离纯化的最佳树脂。通过 AB-8 树脂的动态吸附和解吸实验确定莲子壳多酚纯化的工艺参数为:上样浓度 4.5 mg/mL,上样速度 0.5 mL/min,洗脱剂乙醇浓度 50%,洗脱流速 2 mL/min,洗脱体积 4BV,该条件下,莲子壳多酚纯度可达 69.34%。此工艺条件既充分利用了柱材料又达到了理想的分离效果。稳定性实验结果表明:莲子壳多酚在光照、高温和碱性环境中易破坏,光照越强,温度越高,碱性越强,破坏程度越大。不同金属离子对莲子壳多酚稳定性影响不同, $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$

这6种离子对莲子壳多酚具有显著的破坏作用, $\text{K}^{+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 这6种离子无影响。因此,莲子壳多酚的开发利用应在避光、低温、弱酸环境中进行,并应避免与锡、铁、铝、铜等器皿的接触,降低环境中铅的含量。

### 参考文献

- Zhou DL(周德龙),Gao JH(高建华),Yang WJ(杨祎静), *et al.* Analysis on the nutrient components of lotus seed shell and study on the antioxidation activity of flavonoid. *Anhui Agric Sci*(安徽农业科学),2011,39:3968-3970.
- Zhou M(周密),Duan YQ(段玉清),Wang WB(王文兵), *et al.* *In vivo* and *in vitro* inhibitory activities of proanthocyanidins from lotus seedpod(LSPC) and lotus seed hulls(LSH-PC) against Melanoma B16 in mice. *Food Sci*(食品科学),2009,30:223-226.
- Chen S,Fang LC,Xi HF,*et al.* Simultaneous qualitative assessment and quantitative analysis of flavonoids in various tissues of lotus(*Nelumbo nucifera*) using high performance liquid chromatography coupled with triple quad mass spectrometry. *Anal Chim Acta*,2012,724:127-135.
- Qi SJ,Zhou DL. Lotus seed epicarp extract as potential antioxidant and anti-obesity additive in Chinese Cantonese Sausage. *Meat Sci*,2013,93:257-262.
- Kredy HM,Huang DH,Xie BJ,*et al.* Flavonols of lotus(*Nelumbo nucifera*, Gaertn.) seed epicarp and their antioxidant potential. *Eur Food Res Technol*,2010,231:387-394.
- Martinez-Periñan E,Hernández-Artiga MP,Palacios-Santander JM,*et al.* Estimation of beer stability by sulphur dioxide and polyphenol determination. Evaluation of a Laccase-Sonogel-Carbon biosensor. *Food Chem*,2011,127:234-239.
- Mo XY(莫晓燕),Xu J(徐静),Shao WX(邵卫祥). Purification of flavonoids from mesosperms of *Ginkgo biloba* with macro porous adsorbing resins. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2008,20:157-160.
- Zhou LM(周丽明). Study on extraction, separation, purification, antioxidant and antimicrobial activity of mango polyphenols. Wuhan:Huazhong Agriculture University(华中农业大学),Msc. 2007.
- Wang ZH(汪志慧),Sun ZD(孙智达),Xie BJ(谢笔钧). Stability and thermal degradation kinetics of procyanidins from lotus seed pods. *Food Sci*(食品科学),2011,32:77-82.