

文章编号:1001-6880(2017)7-1218-06

垂序商陆种子油与根皂苷微波辅助提取工艺及 种子油理化性质与根皂苷杀虫活性研究

闫荣玲,毛龙毅,廖阳*,黄国文,谢紫秭,何禧源

湖南科技学院生物与化学工程学院 湘南优势植物资源综合利用省重点实验室,永州 425199

摘要:为更好地开发利用垂序商陆(*Phytolacca americana* L.),本文关注了垂序商陆种子油与根皂苷的微波辅助提取工艺,及种子油理化性质与根皂苷对农业害虫的灭杀效果。结果发现:(1)垂序商陆种子油的微波辅助最佳提取工艺为料液比1:10(g/mL),微波时间70 min,微波功率300 W,微波温度50 °C,种子油得率26.8%;(2)根中皂苷最佳提取工艺为料液比1:25,微波时间80 min,微波功率500 W,微波温度70 °C,根皂苷得率3.22%;(3)垂序商陆种子油密度、折光值、碘值、酸值、过氧化值、皂化值分别为0.887 g/mL、1.542 nD²⁰、138.6 g I₂/100 g、0.89 mgKOH/g、28.25 meq/kg与185.7 mgKOH/g;(4)根皂苷对供试害虫小菜蛾具明显杀虫活性,小菜蛾死亡率随处理时间增加呈递增趋势,至第4 d时达84.4%。结果表明,微波在垂序商陆种子油与根皂苷提取中可起到很好的辅助效果,二者在粮油安全或生物农药领域具有较好的开发潜能。

关键词:种子油;根皂苷;理化性质;灭杀活性;垂序商陆

中图分类号:Q945.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.7.024

Microwave Assisted Extraction of Seed oil and Root Saponin from *Phytolacca americana* and Their Physicochemical Properties as well as Insecticidal Activity

YAN Rong-ling, MAO Long-yi, LIAO Yang*, HUANG Guo-wen, XIE Zi-zi, HE Xi-yuan

Key Laboratory of comprehensive utilization of dominant plant resources in southern Hunan, College of Life Sciences and Chemistry Engineering, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China

Abstract: Microwave assisted extraction process of seed oil and root saponin of *Phytolacca americana*, the physicochemical properties of seed oil and insecticidal activity of root saponin were investigated in the present study for a better development and utilization of *P. americana*. Results showed that, (1) the optimal microwave assisted extraction process of seed oil were solid-liquid ratio of 1:10 (g/mL), microwave time of 70 min, microwave power of 300 W, microwave temperature of 50 °C, the maximum extraction rate of seed oil was 26.8% under the optimal conditions. (2) the optimal extraction process of root saponin were solid-liquid ratio of 1:25 (g/mL), microwave time of 80 min, microwave power of 500 W, microwave temperature of 70 °C, the maximum extraction rate reached 26.8%. (3) physicochemical properties including density, dioptrre, iodine value, acid value, peroxide value, saponification value were 0.887 g/mL, 1.542 nD²⁰, 138.6 g I₂/100 g, 0.89 mg KOH/g, 28.25 meq/kg with 185.7 mg KOH/g, respectively. (4) root saponins had an obvious insecticidal activity to the tested pests of *Plutella xylostella*, the mortality rate increased with the extension of treating time and reached to 84.4% in the fourth day. The results indicated that, seed oil and root saponins of *P. americana* can be extracted efficiently by microwave assisting, they have a great development potential in the field of grain and oil security and biological pesticide.

Key words: seed oil; root saponin; physicochemical property; insecticidal activity; *Phytolacca americana*

植物可再生资源的综合利用在注重环保、生态、健康、可持续发展的今天越来越受到人们的重视,基于天然植物活性成分所开发的食品、药品、日化产品层出不穷地走进大众生活。植物油脂与皂苷是这些植物活性物质的其中两个典型代表。前者是重要的食用油来源及工业原料,其供给的充足与否关系着

收稿日期:2016-09-18 接受日期:2017-03-02

基金项目:湘南优势植物资源综合利用湖南省重点实验室研究项目(XNZW15C10,XNZW15C18);湖南省创新团队项目(2012-318);永州市科技局项目(2015-10);湖南省大学生研究型学习与创新性实验项目(2016-283);2007年湖南科技学院校级重点项目

*通信作者 E-mail:liaoyang1127@163.com

国家的粮油安全及工业生产的正常运行。随着人口的不断增加,人类对油脂的消耗也将增多,挖掘新的油脂资源具有重要的经济与社会价值^[1];后者则因为其具有降血脂、抗氧化、抗肿瘤、抗植物病毒等多重生物学活性而成为极大开发潜力的植物次生代谢产物^[2]。

垂序商陆(*Phytolacca americana L.*)为商陆科商陆属的多年生草本植物,其分布广、易繁殖、生存条件要求低,体内富含皂苷、多糖、生物碱、甾体等多种活性物质,表现出抗氧化、灭杀烟草花叶病毒以及血吸虫宿主钉螺等功效^[3]。已有的研究表明,垂序商陆根部所含皂苷成分复杂,在动物体内可产生抵抗炎症、引发溶血、对细胞产生毒性等生理效应^[4]。目前,人们已对金樱、苜蓿等多种植物的皂苷进行了提取与利用,而对于垂序商陆则依然直接简单利用烘干后的根切片或采用传统有机溶剂浸提法提取其根皂苷,导致利用率或提取率不高,而基于根皂苷的产品研发更少见^[6]。另一方面,植物种子油的提取、纯化、成分分析及开发利用一直以来是人们研究的热点。与其他植物类似,垂序商陆种子在其成熟过程中会逐渐累积油脂。目前,人们对垂序商陆种子中油脂的含量及品质研究几乎仍为空白^[7,8]。微波具有良好穿透性,可在植物活性物质提取中起到破碎细胞,增加细胞中有效成分释放率的作用。目前,还未见利用微波辅助垂序商陆种子油与根皂苷提取的报道。基于此,本研究关注了垂序商陆种子油及根皂苷的微波辅助提取工艺,并对所获种子油的理化性质,以及根皂苷对常见农业害虫的灭杀效果进行了初步研究,以期为其后续开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

根及种子取自湖南科技学院校园及周边生长状态良好的垂序商陆植株,其中种子的获得以直接采摘果实的形式带回。根取回后,经洗净、切片、烘干、打粉处理,置塑料密封袋中备用。采集回来的果实通过揉搓破碎释放出种子,再经多次清水搓洗后,烘干、打粉,置塑料密封袋中备用。

1.2 种子油的提取及理化性质分析

1.2.1 种子油提取流程

取5 g备好的垂序商陆种子粉末,加一定体积的溶剂石油醚,充分搅拌后浸提12 h,之后在一定的

微波温度、微波时间、微波功率下进行微波辅助提取,真空抽滤得澄清液再经旋转蒸发仪回收溶剂并浓缩油脂,最后置50 ℃干燥箱中2 h去除残留试剂,冷却至室温后称重(m)并根据公式 $100 \times m/5$ 计算得率(%)^[8,10]。

1.2.2 单因素实验及正交优化

分别考察了微波时间、微波功率、微波温度、料液比共4个因素对垂序商陆种子油提取得率的影响。首先,在料液比分别为1:4、1:6、1:8、1:10、1:15,微波时间60 min,微波功率200 W,微波温度30 ℃条件下考察了料液比对种子油得率的影响;其次,在料液比1:10,微波时间分别为20、40、60、80、100 min,微波功率200 W,微波温度30 ℃条件下考察了微波时间对种子油得率的影响;再次,在料液比1:10,微波时间60 min,微波功率分别为150、200、250、300、350 W,微波温度30 ℃条件下考察了微波功率对种子油得率的影响;最后在料液比1:10,微波时间60 min,微波功率分别为200 W,微波温度30、40、50、60、70 ℃条件下考察了微波温度对种子油得率的影响^[8,10]。在单因素试验基础上,选择微波时间、微波功率、微波温度及料液比四个因素的各三个较优水平进行L₉(3)⁴正交试验,以确定提取工艺的最优组合。

1.2.3 理化性质分析

相对密度:GB/T 5526-1985;折光指数:GB/T 5527-2010;酸值:GB/T 5530-2005;过氧化值:GB/T 5538-2005;碘值:GB/T 5532-2008;皂化值:GB/T 5534-2008。

1.3 根皂苷的提取

1.3.1 标准曲线制作

精密称取齐墩果酸标准品10.0 mg,用甲醇定容至100 mL,得到浓度为0.1 mg/mL的标准溶液。吸取200 μL标准溶液置具塞试管,水浴挥干,加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.2 mL,高氯酸0.8 mL,70 ℃水浴15 min显色后冰水冷却10 min,加入冰醋酸5 mL,摇匀,随行试剂做空白,于400~700 nm波长下进行全波长扫描,确定最大吸收波长为540 nm,并记录吸光度值。在此基础上,分别吸取50、100、300、400、500 μL齐墩果酸标准溶液,按照上述同样步骤,分别测定各自在540 nm下的吸光值。以浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标得到标准曲线 $Y = 0.180X + 0.004, R^2 = 0.999^{[5]}$ 。

1.3.2 根皂苷提取与测定

称取垂序商陆根粉末 5.0 g, 加入一定体积的 75% 乙醇, 充分搅拌后浸提 12 h, 再在一定的微波温度、微波时间、微波功率下进行皂苷提取。之后趁热抽滤并定容滤液至 100 mL 待测。精密吸取 200 μ L 样本待测溶液置具塞试管中水浴挥干, 并按照 1.3.1 所述后续步骤操作, 在 540 nm 测定吸光度值并代入标准曲线方程, 计算出提取得到的皂苷含量(m_1)并根据公式 $100 \times m_1 / 5$ 转化为得率(%)^[5]。

1.3.3 单因素实验与正交优化

分别考察了微波时间、微波功率、微波温度、料液比 4 个因素对垂序商陆根中皂苷提取得率的影响。首先, 在料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30, 微波时间 60 min, 微波功率 500 W, 微波温度 50 °C 条件下考察了料液比对皂苷得率的影响; 其次, 在料液比 1:20, 微波时间为 20、40、60、80、100 min, 微波功率 500 W, 微波温度 50 °C 条件下考察了微波时间对皂苷得率的影响; 再次, 在料液比 1:20, 微波时间 60 min, 微波功率分别为 200、300、400、500、600 W, 微波温度 50 °C 条件下考察了微波功率对皂苷得率的影响; 最后在料液比 1:20, 微波时间 60 min, 微波功率分别为 500 W, 微波温度 30、40、50、60、70 °C 条件下考察了微波温度对皂苷得率的影响。在单因素试验基础上, 选择微波时间、微波功率、微波温度及料液比四个因素的各三个较优水平进行 L₉(3)⁴ 正交试验, 以确定提取工艺的最优组合^[5]。

1.4 根皂苷杀虫活性

商陆根皂苷提取液减压浓缩至稠膏状后在 40

°C 烘箱中至恒重。称取适量干燥后的根皂苷, 加入少量的丙酮与 1% 的吐温 80(v/v), 完全溶解后用水稀释至 5 mg/mL 备用。供试小菜蛾(1-2 龄)幼虫采自湖南科技学院周边菜地未喷施过农药的白菜叶片, 室内适应性饲养至 3 龄时, 挑选形态大小基本一致的幼虫开展实验。剪取 5×5 cm 大小幼嫩肥厚新鲜白菜叶片, 在前述备好的备试液中浸泡 10 s 后取出挥干, 放入垫有湿润滤纸的培养皿中(每皿 5 片), 接入经过饥饿处理的幼虫(每皿 15 头), 每 24 h 更换 1 次叶片。以随行试剂作为空白对照, 各处理重复 3 次, 分别在 24、48、72、96 h 统计幼虫死亡数, 并根据公式 $100 \times (\text{对照组生存率} - \text{处理组生存率}) / \text{对照组生存率}$ 来计算校正死亡率(%)^[11,12]。

1.5 数据处理

数据经 Excel2003、SPSS19.0 以及 SigmaPlot10.0 等软件进行整理、分析与作图。

2 实验结果

2.1 垂序商陆种子油的微波辅助提取工艺

单因素实验结果发现, 料液比、微波时间、微波功率以及微波温度均对垂序商陆种子油得率有明显影响作用, 但种子油得率随各因素的变化规律各有差异, 具体如图 1 所示。由图可知, 种子油得率随料液比增加逐渐增加, 在 1:10 时达到最大值, 之后呈下降趋势; 随微波时间、功率、温度的增加, 种子油得率均不断增加, 但分别在 50 min、300 W、60 °C 后增加不明显。基于此, 确定单因素实验的最佳条件分别为料液比 1:10, 微波时间 50 min, 微波功率 300 W, 微波温度 60 °C。

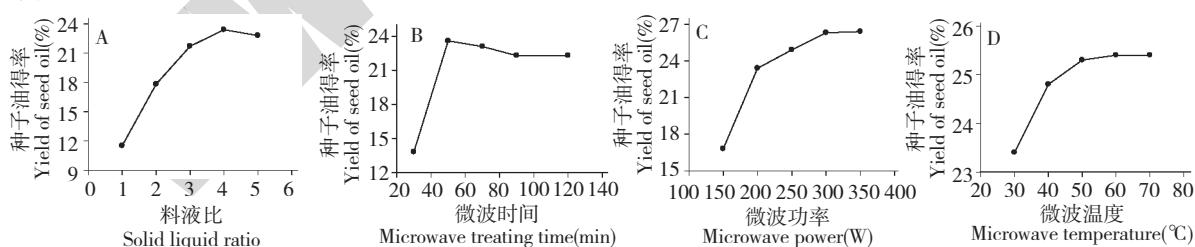


图 1 料液比(A)、微波时间(B)、微波功率(C)及微波温度(D)对垂序商陆种子油得率的影响

Fig. 1 Effect of solid/liquid ratio (A), microwave time (B), microwave power (C) and microwave temperature (D) on the yield of seed oil of *P. americana*

基于单因素实验结果, 从得率与成本两个角度, 我们确定了 1:8、1:10、1:16 三个水平的料液比, 50、70、90 min 三个水平的微波时间, 200、250、300 W 三个水平的微波功率, 30、40、50 °C 三个水平的微波温

度进行正交实验, 结果如表 1 所示。由表可知, 各因素对微波辅助提取垂序商陆种子油的影响大小顺序为料液比 > 微波功率 > 微波温度 > 微波时间, 最佳提取工艺为 A₂B₂C₃D₃, 即料液比 1:10, 微波时间 70

min, 微波功率 300 W, 微波温度 50 °C。验证试验表

明, 在此条件下, 种子油得率为 26.8%。

表 1 种子油微波辅助提取正交优化结果

Table 1 Results of orthogonal experiment of microwave assisted extraction of *P. americana* seed oil

实验序号 No.	(A) 料液比 Solid-liquid ratio	(B) 微波时间 Microwave treating time (min)	(C) 微波功率 Microwave power (W)	(D) 微波温度 Microwave Temperature (°C)	种子油得率 Yield of seed oil (%)
1	1:8	50	200	30	22.6
2	1:8	70	250	40	21.9
3	1:8	90	300	50	22.3
4	1:10	50	250	30	24.3
5	1:10	70	300	50	26.8
6	1:10	90	200	40	23.5
7	1:15	50	300	40	23.2
8	1:15	70	200	50	22.7
9	1:15	90	250	30	21.8
k_1	22.3	23.4	22.9	22.9	
K_2	24.9	23.8	22.7	23.1	
K_3	22.6	22.5	24.1	23.9	
R	2.6	0.4	1.4	1.0	

2.2 垂序商陆种子油的理化性质

垂序商陆种子油理化指标测量值汇总于表 3。由表可知, 其密度与其他植物油脂一样小于 1, 为 0.887 g/mL, 1.542 的折光指数与与 138.6 的碘值为反映其含有丰富的不饱和脂肪酸, 而酸值、过氧化

值、皂化值分别为 0.89、28.25 与 185.7 则反映其低游离脂肪酸含量较低(虽比一般食用油高)。从基本理化性质的数据来看, 垂序商陆种子油是一种具有较高开发潜质的植物油脂。

表 2 垂序商陆种子油理化指标值

Table 2 Value of physicochemical indexes of seed oil of *P. americana*

指标 Index	相对密度 Density (g/mL)	折光指数 Index of refraction (n_D^{20})	碘值 Iodoine value (g I ₂ /100g)	酸值 Acid value (mgKOH/g)	过氧化值 Peroxide value (meq/kg)	皂化值 Saponification value (mgKOH/g)
测量值 Value	0.887	1.542	138.6	0.89	28.25	185.7

2.3 垂序商陆根皂苷的微波辅助提取工艺

如图 2 所示, 料液比、微波时间、微波功率以及微波温度均对垂序商陆根皂苷得率有明显影响作用。随料液比与微波温度的增加, 根皂苷得率逐渐增加, 分别在 1:25 与 60 °C 时达到最大值, 之后呈下

降趋势; 随微波时间、微波功率的增加, 根皂苷得率不断增加, 且在 60 min 与 500 W 后变化不明显, 基本维持稳定。基于此, 确定单因素实验分别在料液比 1:25, 微波时间 60 min, 微波功率 500 W, 微波温度 60 °C 时可得到最高根皂苷得率。

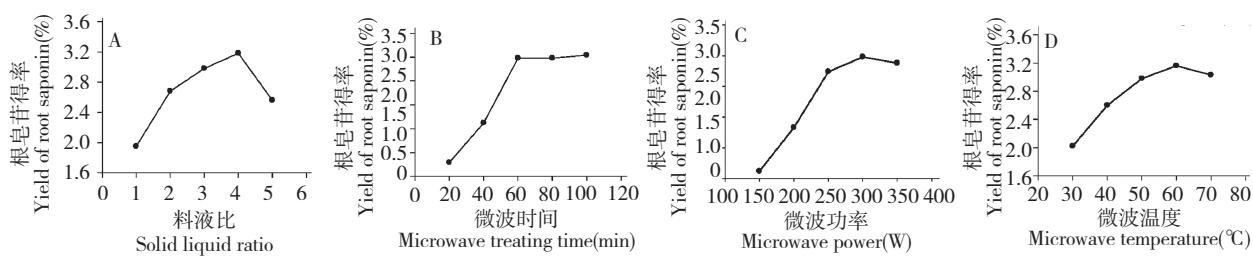


图 2 料液比(A)、微波时间(B)、微波功率(C)及微波温度(D)对垂序商陆根皂苷得率的影响

Fig. 2 Effect of solid/liquid ratio (A), microwave time (B), microwave power (C) and microwave temperature (D) on the yield of root saponin of *P. americana*

由上述单因素实验结果,我们确定了1:15、1:20、1:25三个水平的料液比,60、80、100 min三个水平的微波时间,400、500、600 W三个水平的微波功率,50、60、70 °C三个水平的微波温度进行正交实验。结果发现,各因素对微波辅助提取垂序商陆根

皂苷的影响大小顺序为微波功率>料液比>微波时间>微波温度,最佳提取工艺为A₃B₂C₂D₃,即料液比1:25,微波时间80 min,微波功率500W,微波温度70 °C,具体如表3所示。验证试验表明,在此条件下根皂苷得率为3.22%。

表3 根皂苷微波辅助提取正交优化结果

Table 3 Results of orthogonal experiment of microwave assisted extraction for root saponin of *P. americana*

实验序号 No.	(A)料液比 Solid-liquid ratio	(B)微波时间 Microwave treating time (min)	(C)微波功率 Microwave power (W)	(D)微波温度 Microwave Temperature (°C)	根皂苷得率 Yield of root saponin (%)
1	1:15	60	400	50	2.32
2	1:15	80	500	60	2.90
3	1:15	100	600	70	2.92
4	1:20	60	500	50	2.98
5	1:20	80	600	70	3.01
6	1:20	100	400	60	2.44
7	1:25	60	600	60	3.09
8	1:25	80	400	70	3.00
9	1:25	100	500	50	3.20
k ₁	2.71	2.80	2.59	2.83	
K ₂	2.82	2.97	3.02	2.84	
K ₃	3.01	2.85	3.00	2.98	
R	0.30	0.17	0.43	0.15	

2.4 根皂苷杀虫活性测定

结果发现,以乙醇为溶剂通过微波辅助提取得的根皂苷对供试害虫小菜蛾具有明显的杀虫活性,且在处理后24 h即对小菜蛾表现出灭杀效果,随着处理时间延长,小菜蛾的死亡率呈递增的趋势,到第4天时,灭杀率达到84.4%,具体如图3所示。

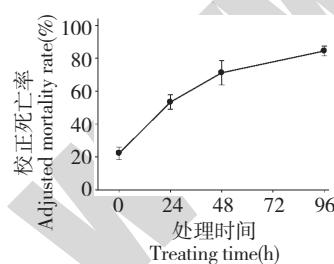


图3 垂序商陆根皂苷对小菜蛾的杀灭效果

Fig. 3 Insecticidal activity of root saponin of *P. americana* to the tested pests of *Plutella xylostella*

3 讨论与结论

垂序商陆根因含有丰富的萜、酮、皂苷等活性物质而表现出消炎、抗菌、抑癌等功效,因此一直以来作为传统中药使用,但对根中活性物质尤其是皂苷的研究报道还不多见,对皂苷提取的已有研究也仅

采取传统浸提法^[6]。微波波长较长,具有很好的穿透性,对植物细胞具有很好的破碎作用而有利于植物活性物质的释放,因此,可应用于垂序商陆皂苷的提取^[13]。本文摸索了微波辅助提取垂序商陆根中皂苷的最佳工艺并发现,在料液比1:25,微波时间80 min,微波功率500 W,微波温度70 °C时候可以获得最佳皂苷得率。工艺参数相比传统浸提法,微波辅助可使提取所消耗的时间与溶剂更少,得率更高(可达3.22%)^[6]。因此,微波在提取过程中发挥了积极作应,摸索建立的微波辅助提取工艺为后续垂序商陆根皂苷的进一步开发利用奠定了基础。

植物种子为保证正常萌发,往往会在成熟过程中累积较高含量的油脂,作为多年生草本植物的垂序商陆也不例外。目前,还几乎未见关于垂序商陆种子油的研究报道,本研究建立了垂序商陆种子油的微波辅助提取工艺,结果发现在料液比1:10,微波时间70 min,微波功率300 W,微波温度50 °C时,提取工艺为最优组合。与人们在其他植物种子油中提取中所建立的微波辅助工艺相比,参数还是存在一些差异,如相对山毛豆种子,种子油提取所需料液比较小,而微波时间较长;相对于紫苏籽,所需料液比与微波功率则均更大^[15,16]。结果说明,原材料的预处理、所用溶剂、植物种子组织结构等因素的差

异,会导致提取工艺的不同。值得注意的是,垂序商陆种子油提取工艺的各项参数均小(短、低)于根皂苷的提取工艺各项参数,可见皂苷提取所需各项条件要求更苛刻。

最佳工艺条件下 26.8% 的种子油得率,说明垂序商陆种子的含油料量较高,完全可与其他植物种子媲美,且理化性质各项指标值提示其含有较丰富的不饱和脂肪酸与较低游离脂肪酸含量,据此可初步评定其是一种较好的植物油脂资源^[17]。较高的含油量以及优良的理化性质为垂序商陆在粮油安全、生物能源、工业生产等领域的后续开发利用提供了良好的条件。另一方面,基于天然活性物质开发的生物农药由于其具有天然、无毒(或低毒)、可降解等优点而越来越受到人们的重视^[18,19]。本研究所获根皂苷对农业害虫小菜蛾表现出了良好的灭杀活性,到处理的第 4 d 死亡率达到 84.4%,虽略低于苦皮藤果实等其他植物活性物质对农业害虫的灭杀率^[12,20],但已可满足农业害虫防治的需要,且若对所获皂苷进行进一步纯化,其灭杀效果可能还会有一定程度的提高。因此,垂序商陆根皂苷在农业常见害虫的防治上具有极大的开发潜力,

综上所述,微波辅助可以帮助人们更好地从垂序商陆的种子与根中获得油脂与皂苷等活性物质,种子油的良好理化性质以及根皂苷对农业害虫的良好灭杀效果使垂序商陆在保障粮油安全,提供工业原料以及生物农药研制等领域均表现出极大的开发潜能。

参考文献

- Xu HQ(涂洪强). Seed oil extraction and analysis for horticultural plants. Changsha:Hunan Agricultural University (湖南农业大学), MSc. 2009.
- Li J(李佳), Wang CZ(王成章), Yan XB(严学兵), et al. Advances on biological activities of plant saponin. *Pratacultural Sci*, 2012, 29:488-494.
- Fang WW(房伟伟), Chen J(陈钧), Han BX(韩邦兴), et al. Molluscicidal effect of *Phytolacca americana* linn leaf against *Oncomelania hupensis* and its acute toxicity. *Chin J Schisto Control*, 2011, 23:449-452.
- Wu F(吴飞). Synthesis and structure-activity relationship research of the derivatives of esculentoside A. Shanghai:Second Military Medical University (第二军医大学), MSc. 2007.
- Yi YH(易运红), Wu GQ(吴功庆), Wang LJ(王莲婧), et al. Study on ultrasonic extraction of total saponins of root of *Rosa Laevigata* Wichx. *Sci Tech Food Ind*, 2011, 5:270-272.
- Zhang HT(张海涛), Yang HJ(杨海君), Xu X(徐星), et al. Study on the extraction technology of total saponins from *Ranunculus* *phytolaccae*. *Anhui Agri Sci Bull*, 2015, 21(18):37-39.
- Sun Q(孙谦), Long Y(龙勇), Sun ZG(孙志高). The main chemical composition and extraction methods for citrus seed oil. *J Chin Gereals Oils Assoc*, 2015, 30:142-146.
- Liu SB(刘世彪), Tan XM(谭秀梅), Peng XL(彭小列), et al. Extraction, composition analysis and acute toxicity test of seed oil of *Gynostemma pentaphyllum*. *Guiahaia*, 2014, 34: 130-134.
- Liu J(刘举), Chen JF(陈继富). Extraction of seed oil and fatty acid analysis from four species in Magnoliaceae. *Guiahaia*, 2013, 33:208-213.
- Ding LJ(丁丽娟), Ding W(丁伟), Zhang YQ(张永强). Acaricidal activity of different ultrasonic wave extracts from *Phytolacca americana* roots against *Tetranychus cinnabarinus*. *Chin J Ecol*, 2013, 32:621-626.
- Jiang N(蒋妮), Miu JH(缪剑华), Xie BL(谢保令). The insecticidal activities of crude extracts from 6 medicine plants against the larvae of *Yponomeutidae evonymellus* L. *Chin Agri Sci Bull*, 2006, 22:297-299.
- Li HB(黎海彬), Wang Y(王邕), Li JF(李俊芳), et al. Application of microwave assisted extraction technology to extraction of natural products. *Mod Food Sci Tech*, 2005, 21: 148-150.
- Guo YH(葛永辉), Luo HP(罗焕平), Zheng Y(郑钰), et al. Antitobacco mosaic virus activity of triterpenoid saponin from *Phytolacca americana*. *Chin J Pestic Sci*, 2015, 17:300-306.
- Zhang Y(张鹰), He XZ(何兴值), Yu X(于新). Study on extraction process of seed oil of *Tephrosia candida* by microwave assisted method. *Gereals Oils Proc*, 2010, 11:10-12.
- Song SH(宋曙辉), He HC(何洪巨), Wang WQ(王文琪), et al. Study on oil extraction of Perilla seed by microwave assisted extraction technique. *Anhui Agri Sci Bull*, 2006, 12(9):34-35.
- Liu SB(刘世彪), Lv JM(吕江明), Liu ZX(刘祝祥), et al. Study on extraction, composition analysis and acute toxicity test on seed oil of *Savia Splendens*. *J Chin Gereals oils Assoc*, 2011, 26(9):56-59.
- Liu QS(刘清术), Liu QG(刘前刚), Chen HR(陈海荣), et al. Advance, development trend and perspective of studies on bio-pesticides. *Agrochemicals Res Appl*, 2007, 11(1):17-25.
- Kural NA, Cobanoglu S, Yalcin C, et al. Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). *J Pest Sci*, 2010, 83:173-180.
- Yang ZM(杨征敏), Wu WJ(吴文君), Ji ZQ(姬志勤), et al. Studies on pesticidical components of *Celastrus angulatus*. *J Northwest Sci-Tech Univ Agri and For (Nat SCI)*, 2001, 29(6):61-64.