

冻干青胡椒油树脂的提取及其乳化工艺研究

张 鹏^{1,2}, 张超华², 吴桂苹^{2*}, 谷风林², 胡卫成³, 郑凌君⁴, 谢 凡⁴, 侯梅芳¹,
Cho Jae Youl⁵

1. 上海应用技术大学, 上海 201418; 2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所/国家重要热带作物工程技术研究中心/海南省特色热带作物适宜性加工与品质控制重点实验室, 海南万宁 571533; 3. 扬州大学医学院转化医学研究所, 江苏扬州 225009; 4. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240; 5. 韩国成均馆大学综合生物技术系与生物医学研究所, 韩国水原 16419

摘 要: 为解决传统胡椒加工附加值低、胡椒油树脂流动性差、冻干青胡椒油树脂提取与乳化工艺不完善等问题, 本研究以冻干青胡椒为原料, 采用超声波-微波协同萃取制备胡椒油树脂, 利用气相色谱-质谱联用技术(环己酮为内标)分析其挥发成分, 选用吐温 80 与司盘 80 复配乳化剂体系, 考察 pH、离子强度及含水量对乳液稳定性的影响。结果显示: 胡椒油树脂共检测出 37 种挥发性化合物, 主要为单萜烯和倍半萜烯类, 其中 β -石竹烯(210.83 mg/mL)成分含量最高; 复配乳化剂的理想 HLB 值约为 11, 在为 pH 8.0~9.0、不添加 NaCl、含水量为 95%的条件下, 乳液粒径较低且理化性质稳定。本研究优化了冻干青胡椒油树脂的提取与乳化工艺, 为其开发利用及胡椒产业精深加工升级提供技术支撑。

关键词: 冻干青胡椒; 胡椒油树脂; 提取; 乳化工艺

中图分类号: TS209 文献标志码: A

Technical Study on the Extraction and Emulsification of Freeze-dried Green Pepper Oleoresin

ZHANG Peng^{1,2}, ZHANG Chaohua², WU Guiping^{2*}, GU Fenglin², HU Weicheng³, ZHENG Lingjun⁴, XIE Fan⁴,
HOU Meifang¹, CHO Jae Youl⁵

1. Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China; 2. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / National Center of Important Tropical Crops Engineering and Technology Research / Key Laboratory of Processing Suitability and Quality Control of the Special Tropical Crops of Hainan Province, Wanning, Hainan 571533, China; 3. Institute of Translational Medicine, School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 4. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 5. Department of Integrative Biotechnology, and Biomedical Institute for Convergence at SKKU (BICS), Sungkyunkwan University, Suwon 16419, Republic of Korea

Abstract: To address the issues of low added value in traditional pepper processing, poor fluidity of pepper oleoresin, and the incomplete extraction and emulsification techniques for freeze-dried green pepper oleoresin, this study used freeze-dried green pepper as raw material to prepare pepper oleoresin through ultrasonic-microwave assisted extraction. The volatile components were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (with cyclohexanone as the internal standard), and a mixed emulsifier system of Tween 80 and Span 80 was selected to investigate the effects of pH, ionic strength, and water content on the stability of the emulsion. The results showed that a total of 37 volatile compounds were detected in the pepper oleoresin, mainly monoterpenes and sesquiterpenes, among which β -caryophyllene (210.83 mg/mL) had a relatively high content. The ideal value of the mixed emulsifier was approximately 11. Under the conditions of pH 8.0–9.0, without adding NaCl, and a water content of 95%, the emulsion had a lower particle size and stable physicochemical properties. This study optimized the extraction and emulsification process of freeze-dried green pepper oleoresin, providing technical support for its development and

收稿日期 2025-09-26; 接受日期 2025-12-04

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2024XDNY177)。

作者简介 张 鹏 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 热带作物加工。*通信作者 (Corresponding author): 吴桂苹 (WU Guiping), E-mail: guiping81@163.com。

utilization as well as the upgrading of the pepper industry's deep processing.

Keywords: freeze-dried green pepper; pepper oleoresin; extraction; emulsification process

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.03.021

胡椒 (*Piper nigrum* L.) 是热带香辛料作物, 也是人们生活中必不可少的调味品^[1]。传统用法多制成胡椒粒、胡椒粉, 或与其他香辛料混合制成复合调味粉。油树脂是从植物、香料及草药中提取的浓缩提取物, 成分较精油更为复杂, 除挥发性化学物质外, 还含非挥发性成分、色素及刺激性化合物。这类添加剂因含丰富化学物质, 能提供香气、风味、颜色及刺激性, 在食品行业备受关注。胡椒油树脂是胡椒粉经溶剂提取的油状物质^[2], 呈黏稠深绿色, 具辛辣气味, 略带柠檬与丁香风味; 其主要成分为挥发油与胡椒碱, 含胡椒全部芳香及辛辣刺激物质^[3], 因其独特风味, 广泛应用于肉类、酱汁、辣酱、汤品及小吃等食品中。

从胡椒中提取具有生物活性的油树脂已有多种方法, 其中包括有机溶剂提取法^[4]、微波辅助提取法^[5-6]、超声波辅助提取法^[7]、超声-微波协同提取法^[8]和超临界 CO₂ 提取法^[9]等。周叶燕等^[5]采用微波辅助法提取黑胡椒油树脂, 在微波功率 2400 W、料液比 1:7、物料流量 52 L/h 的条件下, 黑胡椒油树脂得率为 12.69%。OLALERE 等^[6]采用微波回流法提取黑胡椒油树脂, 在辐照时间 120 min、微波功率 350 W、胡椒粒径 0.105 mm 的条件下, 得到油树脂最佳提取率为 5.64%。李平凡等^[7]采用超声波辅助法提取黑胡椒油树脂, 以乙醇为有机溶剂, 在超声波功率 125 W、时间 50 min、乙醇浓度 75%、料液比 1:35、温度 70 ℃ 的条件下, 油树脂得率最高。吴桂苹等^[10]选择乙醇为溶剂, 比较了溶剂索氏提取、超声波提取、微波提取、超声波-微波协同提取等方法对胡椒油树脂得率及胡椒碱含量的影响, 结果表明, 在上述方法中超声-微波协同提取得到的胡椒油树脂得率最高, 为 17.23 %, 油树脂中胡椒碱含量为 42.20%。超声-微波协同提取的胡椒油树脂得率大于单独使用微波辅助提取法和超声辅助提取法。

胡椒油树脂具有流动性较差、不溶于水、溶解后易析出晶体等特点, 制约了油树脂的利用效率。乳化油树脂获得乳液可能改善油树脂的稳定性、缓释性和抑菌性能。宋美娜等^[11]制备了胡椒

油树脂乳液, 向水相中加入 25% 硬脂酸钠及 1.5% 黄原胶, 油相加入芥花油及 5% 单甘酯, 制备出水包油包水型 (W/O/W) 乳液, 所得乳液的状态比较均一, 不存在分层现象。陈星星等^[12]报道了胡椒油树脂的乳化及稳定性, 但其风味特性尚未研究。

因此, 本研究以冻干青胡椒为原料, 采用超声-微波协同萃取法提取得到胡椒油树脂, 分析主要挥发性成分, 并对制备的胡椒油树脂进行乳化工艺研究, 得到相对稳定的胡椒油树脂乳液, 扩大其应用范围, 促进胡椒产品加工由传统的初加工向高附加值精深加工转变, 使胡椒加工产业由资源型向高效利用型转变。

1 材料与方法

1.1 材料

在中国热带农业科学院香料饮料研究所的兴隆基地采摘 7~8 成成熟的绿色胡椒鲜果, 在海南兴科热带作物工程技术有限公司冷冻干燥加工成冻干青胡椒。

胡椒碱 (色谱纯)、甲醇 (色谱纯) 购自默克股份有限公司 (德国); 乙醇 (分析纯)、正己烷 (分析纯)、无水硫酸钠 (分析纯)、碳酸钠 (分析纯)、盐酸 (分析纯)、甲苯 (分析纯)、氯化钠 (分析纯)、氯化钾 (分析纯)、氢氧化钠 (分析纯)、亚硫酸氢钠 (分析纯) 购自西陇科学股份有限公司; 福林酚试剂 (分析纯)、8-苯胺基-1-萘磺酸钠 (色谱纯)、PBS 缓冲液 (分析纯) 购自上海源叶生物科技有限公司; 环己酮 (色谱纯) 购自上海阿拉丁试剂有限公司; 吐温 80 (食品级)、司盘 80 (食品级)、吐温 60 (食品级)、司盘 60 (食品级)、单甘脂 (食品级)、蔗糖脂肪酸酯 (食品级)、硬脂酸钠 (食品级)、羧甲基纤维素钠 (食品级) 购自河南聚荣食品添加剂公司。

EL303/204 分析天平购自美国 METTLER TOLEDO 有限公司; T18 高速分散机购自德国 IKA 有限公司; PHS-3C 精密 pH 计购自上海精密科学仪器有限公司; XM60 快速水分测定仪购自瑞士 Precisa 有限公司; DS-1 高速组织捣拌机购

自上海标本模型厂; GL-3250A 磁力搅拌器购自越新仪器制造有限公司; CS150GXII 超速离心机购自日本 HITACHI 有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅购自常州奥华仪器有限公司; XB-40 全自动雪花制冰机购自新芝生物科技有限公司; Agilent 7890B-5975C 气质联用仪购自美国 Agilent 公司; DZ-88 电热恒温真空干燥箱购自上海跃进医疗器械厂; M3761-33CN 旋涡混合器购自 Thermo Scientific; SynergyH1 波长扫描式多功能读数仪购自美国 BioTek 有限公司; SB-5200D 超声波清洗机购自新芝生物科技有限公司; NANO ITC 等温滴定量热仪购自美国 Waters 有限公司; CW-2000 超声-微波协同萃取仪购自上海新拓分析仪器科技有限公司; R-215 旋转蒸发仪购自瑞士 BUCHI 有限公司; DSC250 差示扫描量热仪购自美国 TA 有限公司; Mastersizer 300 粒径分析仪购自英国 Malvern 有限公司。

1.2 方法

1.2.1 胡椒油树脂的制备 将冻干青胡椒粉碎过 80 目筛, 称取 20 g 冻干胡椒粉与 200 mL 无水乙醇混合。参考 CHEN 等^[13]的方法采用超声-微波协同萃取仪, 微波温度 60 °C, 微波功率 300 W, 对混合物进行超声微波耦合处理, 处理时间为 18 min。将提取物过滤到恒重的旋转蒸发瓶中, 使用旋转蒸发仪在 55 °C 的恒温水浴中进行浓缩, 直到无液体流出。然后将烧瓶在 50 °C 的真空干燥器中烘干至恒重, 瓶中所得物质为胡椒油树脂。

1.2.2 胡椒油树脂的化学成分分析 参考段梦雅等^[14]的方法, 并稍作改动。采用 GC-MS 对胡椒油树脂进行挥发性成分分析。气相色谱条件: 色谱柱 BR-5MS (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 μm df); 载气采用高纯氮气; 载气流速为 1.0 mL/min, 进样温度为 230 °C, 进样量为 1 μL, 分流比为 1:30; 升温程序: 60 °C 保持 0 min, 以 3 °C/min 升温到 300 °C, 保持 3 min, 溶剂延迟 5 min。质谱条件: 离子源 EI, 电离能量为 70 eV, 离子源温度为 280 °C, 传输线温度为 250 °C。全扫描: 质荷比为 40~400。胡椒油树脂中各化合物的定量参考李鑫等^[15]的方法, 即以环己酮为内标, 计算胡椒油树脂中各组分的含量。

1.2.3 胡椒油树脂乳液的制备 参考陈星星等^[12]的方法, 稍作修改。分别向试管内添加同一浓度不同乳化剂溶液, 每次 1 mL, 加热到全部溶解, 经过一段时间的超声处理, 待其完全溶解, 制成

50% (V/V) 胡椒油树脂乙醇溶液, 添加乳化剂溶液, 震荡搅拌均匀, 封闭后在 50 °C 的水浴中孵化 24 h, 测油层高度, 利用油层高度降低情况, 对适宜的乳化剂进行初步筛选。

称量适量乳化剂, 缓慢加热至 65 °C, 添加无水乙醇混溶, 当温度趋于稳定时, 向温度一致的胡椒油树脂内慢慢滴加混合乳化剂, 震荡之后维持恒温, 在同一温度下逐滴加超纯水。降至室温后均质 1 min, 用细胞破碎仪冰水浴超声 1 min, 对所得胡椒油树脂乳液进行分析测定。

1.2.4 乳化剂筛选 经以上步骤, 选择司盘 80、吐温 80 作为后续的复配乳化剂。调节乳化剂的亲水亲油平衡值 (HLB), 胡椒油树脂经乳化后, 配置为一系列 O/W 型乳液, 其含水量为 95%, 最大吸收波长值测定采用紫外全波段扫描的方法, 在此波长范围内, 分析各种乳液的浊度并绘出曲线。计算混合表面活性剂的 HLB 值, 公式: $HLB = HLB_A \times A\% + HLB_B \times B\%$, 其中 HLB_A 、 HLB_B 分别为表面活性剂 A、B 的亲水亲油平衡值, $A\%$ 、 $B\%$ 分别为表面活性剂 A、B 在混合体系中所占的质量百分比。

1.2.5 胡椒油树脂乳液粒径测定 采用马尔文粒径分析仪测定乳液样品的平均粒径分布。

1.2.6 胡椒油树脂乳液 ζ-电位测定 采用 zeta 电位仪测定乳液样品的 ζ-电位^[16]。

1.2.7 胡椒油树脂乳液的差示热量扫描 参考邱亦亦^[17]的方法对胡椒油树脂乳液进行 DSC 测试。配制不同含水量胡椒油树脂乳液, 采用差示热量扫描仪对乳液热力学性能进行测定。准确量取含水量为 40 μL 的胡椒油树脂乳液, 放入铝坩埚内, 压盖, 且表面留有气孔。试验温度范围为 -80~100 °C, 降温速率为 40 °C/min, 达到 -80 °C 时恒温 5 min, 升温速率为 5 °C/min, 氮气防护。

1.2.8 pH、离子强度及含水量对胡椒油树脂乳液稳定性的影响 将配制的胡椒油树脂乳液置于透明小瓶内, pH 分别调整为 3、4、5、6、7、8、9、10, 于 25 °C 黑暗条件下, 静置 24 h, 观察乳液分层, 测定乳液粒径 $[D_{(4,3)}]$, 分析 pH 对胡椒油脂乳液稳定性的影响。

将配制的胡椒油树脂乳液置于透明小瓶内, 加入 NaCl, 使乳液中 NaCl 的浓度分别为 0、1、2、3、4、5 mmol/L, 4 °C 避光静置 24 h, 观察乳液分层的变化, 测定乳液粒径 $[D_{(4,3)}]$, 分析离子强度对胡椒油脂乳液稳定性的影响。

制备不同含水量（10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%和 90%）的胡椒油树脂乳液，放置在透明的小瓶里，置于 25 ℃ 的黑暗环境中 0、7、14 d，观察乳液分层，测定乳液粒径 $[D_{(4,3)}]$ ，分析含水量对胡椒油树脂乳液稳定性的影响。

2 结果与分析

2.1 胡椒油树脂的挥发性成分分析

挥发性成分对食用香料的质量具有重要意义，对胡椒油树脂中挥发性化合物成分和含量进行分析和研究，有利于研究其风味特征，为其加工应用提供指导。胡椒油树脂成分 GC-MS 的挥发性化合物总离子流图如图 1 所示，化合物的鉴定结果如表 1 所示。

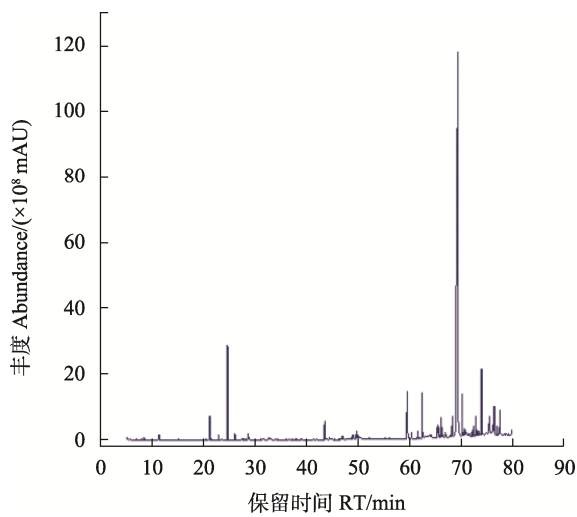


图 1 胡椒油树脂中挥发性化合物总离子流图
Fig. 1 Total ion current diagram of volatile compounds in green pepper oleoresin

由表 1 可知，胡椒油树脂中共检测出 37 种挥发性化合物，主要为单萜烯和倍半萜烯类化合物。含量相对较高的成分有 β -石竹烯(210.83 mg/mL)、 δ -榄香烯（64.93 mg/mL）、(-)- α -荜澄茄油烯（20.28 mg/mL）、 α -石竹烯（17.34 mg/mL）和 δ -杜松烯（13.47 mg/mL）等，还有一些含量虽然较低但也是胡椒主要成分的有(1S)-(-)- α -蒎烯（1.77 mg/mL）、3-蒎烯（1.63 mg/mL）以及 β -蒎烯（1.87 mg/mL）等。

2.2 乳化剂的选择与优化

乳化剂是一种脂肪结晶调节剂，其对水相和油相亲和能力的差异通常用亲水亲油平衡值（HLB）来表示^[18]，既要使胡椒油树脂具有良好的乳化效果，又要符合国家食品、医药等行业的

表 1 胡椒油树脂挥发性成分及含量
Tab. 1 Volatile composition and content of pepper oleoresin

序号 No.	化合物 Compound	CAS 登记号 CAS registry number	分子式 Molecular formula	含量 Content/ (mg·mL ⁻¹)
1	(1S)-(-)- α -蒎烯	7785-26-4	C ₁₀ H ₁₆	1.77
2	3-蒎烯	13466-78-9	C ₁₀ H ₁₆	1.63
3	蒎品油烯	586-62-9	C ₁₀ H ₁₆	2.43
4	(3aS)-3a β -甲基-3,3a,4,5,6,7-六氢-2H-茛-2-酮	54725-16-5	C ₁₀ H ₁₄ O	0.59
5	芳樟醇	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	5.35
6	α -松油醇	98-55-5	C ₁₀ H ₁₈ O	3.22
7	1,7,7-三甲基-2-乙烯基双环[2.2.1]庚-2-烯	130930-56-2	C ₁₂ H ₁₈	1.34
8	邻苯二甲酸二甲酯	131-11-3	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0.49
9	反式菖蒲烯	73209-42-4	C ₁₅ H ₂₂	0.58
10	阿里斯托尔二烯	34143-96-9	C ₁₅ H ₂₂	0.75
11	(-)- α -荜澄茄油烯	17699-14-8	C ₁₅ H ₂₄	20.28
12	δ -榄香烯	20307-84-0	C ₁₅ H ₂₄	64.93
13	β -蒎烯	18252-44-3	C ₁₅ H ₂₄	1.87
14	β -石竹烯	87-44-5	C ₁₅ H ₂₄	210.83
15	α -石竹烯	6753-98-6	C ₁₅ H ₂₄	17.34
16	α -瑟林烯	473-13-2	C ₁₅ H ₂₄	3.10
17	右旋大根香叶烯	23986-74-5	C ₁₅ H ₂₄	2.03
18	β -瑟林烯	17066-67-0	C ₁₅ H ₂₄	3.03
19	γ -古芸烯	22567-17-5	C ₁₅ H ₂₄	0.66
20	法尼烯	502-61-4	C ₁₅ H ₂₄	0.62
21	δ -杜松烯	483-76-1	C ₁₅ H ₂₄	13.47
22	(+)-香橙烯	489-39-4	C ₁₅ H ₂₄	5.62
23	γ -衣兰油烯	30021-74-0	C ₁₅ H ₂₄	1.88
24	(-)- α -新蒜氨酸	729602-94-2	C ₁₅ H ₂₄	1.82
25	氧化石竹烯	1139-30-6	C ₁₅ H ₂₄ O	2.07
26	异丁烯醇	88395-46-4	C ₁₅ H ₂₄ O	8.65
27	石竹烯醇 I	19431-80-2	C ₁₅ H ₂₄ O	0.76
28	大根香叶烯-4-醇	198991-79-6	C ₁₅ H ₂₆ O	0.81
29	喇叭茶醇	577-27-5	C ₁₅ H ₂₆ O	0.31
30	荜澄茄醇	23445-02-5	C ₁₅ H ₂₆ O	1.23
31	6-芹子烯-4 醇	118173-08-3	C ₁₅ H ₂₆ O	1.12
32	香叶基香叶醇	24034-73-9	C ₂₀ H ₃₄ O	1.85
33	油酸甲酯	112-62-9	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	0.48
34	植物醇	150-86-7	C ₂₀ H ₄₀ O	5.35
35	亚麻酸乙酯	1191-41-9	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1.11
36	亚油酸乙酯	544-35-4	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	3.54
37	9-十八烯酸乙酯	6512-99-8	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	1.58

卫生使用标准等，且不影响产品整体感官。因此，在实际生产过程中必须选择合适的乳化剂。低 HLB 值乳化剂具有较好的调节脂肪结晶的能力^[19]，而高 HLB 值乳化剂具有较强的表面活性^[20]，合适的 HLB 值是乳液稳定的基础。因此，在实际应用中，

通常将低 HLB 值乳化剂与高 HLB 值乳化剂复配使用^[21-23]。本研究选用吐温 20、吐温 40、吐温 60、吐温 80、蔗糖酯、司盘 40、司盘 60 和司盘 80 等乳化剂进行一系列预试验，不同乳化剂对胡椒油树脂的乳化能力见表 2。由表 2 可看出，不同类型乳化剂在油相中的溶解能力为吐温 80>司盘 80>吐温 20>吐温 40>蔗糖酯。司盘 80 复配组合性能均比较理想,最佳 2 组油层高度分别降低 35.36%、32.69%。

表 2 不同乳化剂对胡椒油树脂的乳化能力
Tab. 2 Emulsification ability of different emulsifiers on pepper oleoresin

乳化剂 Emulsifiers	亲水亲油平衡值 HLB	油层的高度变化 Variation in oil layer thickness/%
司盘 40	6.70	13.75
司盘 60	4.70	17.92
司盘 80	4.30	24.36
吐温 20	16.70	17.81
吐温 40	15.60	15.36
吐温 80	15.00	31.05
蔗糖酯	15.00	10.89
吐温 20/司盘 80	10.50	29.60
吐温 80/司盘 80	9.65	35.36
蔗糖酯/司盘 80	9.65	32.69

注：复配乳化剂质量比为 1 : 1
Note : The mass ratio of compound emulsifier is 1 : 1.

选用司盘 80/吐温 80 和司盘 80/蔗糖酯 2 种复配体系，开展后续试验，其感官评价如表 3 所示。当 HLB 值在 5~15 范围内，司盘 80/蔗糖酯、司盘 80/吐温 80 均可与胡椒油树脂形成乳液。随着吐温 80 或者蔗糖酯比例的增加而增加，乳液亲水能力提高，乳液品质有一定的改善。由于蔗糖酯在室温下不能全部溶解于水，且易起泡、易沉淀及其他作用使体系透明度下降和黏度升高，因此选择以司盘 80/吐温 80 为复配乳化剂，对乳化方案进行优化。

2.3 不同 HLB 值乳液的浊度变化

乳液是由无数微小的液滴组成的多分散系统，当光线照射到它们的表面时，会在液滴之间进行反射、散射和传输等。这些因素导致乳液具有不同程度的浑浊度或不透明度，这影响了它们的光学特性。为了描述乳液的光学特性并评估其质量，乳液的浊度或吸光度是一个关键指标^[24]。本研究选用吐温 80 与司盘 80 复配,制备不同 HLB 值的胡椒油树脂乳液，稀释后用全波段紫外光谱

表 3 不同比例乳化剂复配制成乳液的感官评价
Tab. 3 Sensory evaluation of emulsions with different proportions of emulsifiers

乳化剂 Emulsifiers	比例 Proportion	亲水亲油平衡值 HLB	乳液状态 Emulsion state
司盘 80		4.30	乳液不均匀，黑绿色浑浊，大量絮状沉淀，分层
司盘 80/ 吐温 80	3 : 1	6.98	乳液不均匀，黑绿色不透明，少量絮状沉淀，基本不分层
司盘 80/ 吐温 80	1 : 1	9.65	乳液均匀，黑绿色微透明，少量絮状沉淀，基本不分层
司盘 80/ 吐温 80	1 : 3	12.33	乳液均匀，黑绿色微透明，基本无沉淀，不分层
吐温 80		15.00	乳液均匀，黑绿色微透明，少量颗粒沉淀，基本不分层，放置一段时间有絮状沉淀产生
司盘 80/ 蔗糖酯	3 : 1	6.98	乳液不均匀，黑绿色浑浊，有沉淀，分层，有泡沫
司盘 80/ 蔗糖酯	1 : 1	9.65	乳液均匀，黑绿色不透明，少量颗粒沉淀，基本不分层，少量泡沫
司盘 80/ 蔗糖酯	1 : 3	12.33	乳液均匀，黑绿色微透明，无沉淀，不分层，少量泡沫
蔗糖酯		15.00	乳液基本均匀,黑绿色不透明，少量颗粒沉淀，基本不分层，有泡沫

注：复配乳化剂比例为质量比。
Note: The proportion of compound emulsifier is the mass ratio.

扫描，从图 2A 中可以得到最大波长 670 nm。在此波长范围内扫描不同 HLB 胡椒油树脂乳液的紫外光谱，体系浊度的变化由吸光值体现。根据图 2B 可知，静置一段时间后，HLB>11 的乳化剂制备的乳液会变得浑浊或沉淀，因此，本研究利用的复合乳化剂系统的理想 HLB 约为 11。

2.4 HLB 值对胡椒油树脂乳液粒径的影响

乳液粒径是影响胶体稳定性的核心因素之一，粒径越小、分布越窄，胶体体系通常越稳定。 ζ -电位是判断胶体分散体系稳定性的关键指标，其绝对值大小决定稳定性，绝对值越高，胶体分散体系越稳定。因此，为了考察胡椒油树脂乳液稳定性，研制具有较好应用性能的水包油乳液，对含水量 95%水包油乳液粒径及 ζ -电位作进一步测定,并对乳液在不同 HLB 值设定条件下的特性进行研究。从图 3A 可以看出，在司盘 80/吐温 80 乳化体系下，乳液在 HLB 为 11 时， ζ -电位绝对值最高，即胶体分散体系相对最稳定。当 HLB 值从 6 升高到 11，平均粒径从 4.477 μm 降低到

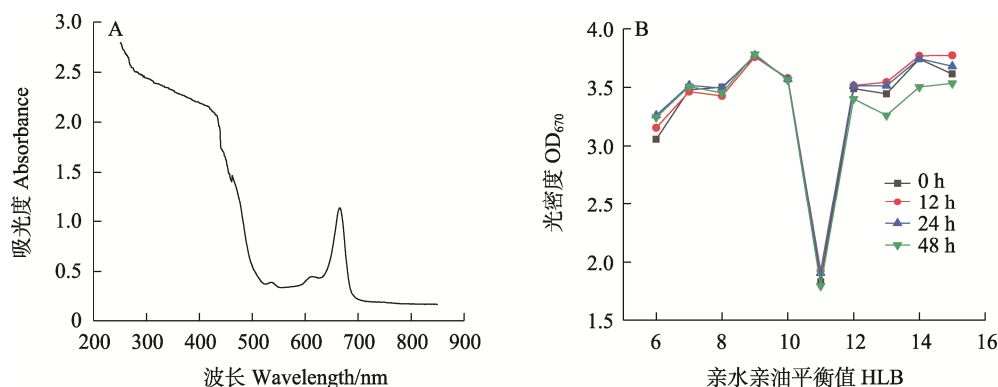


图 2 胡椒树脂乳液全波段紫外光谱扫描图谱 (A) 和不同 HLB 值乳化剂制备的乳液吸光值曲线 (B)

Fig. 2 Full-band UV spectral scan of pepper oleoresin emulsion (A) and curves of absorbance values with emulsion of different HLB (B)

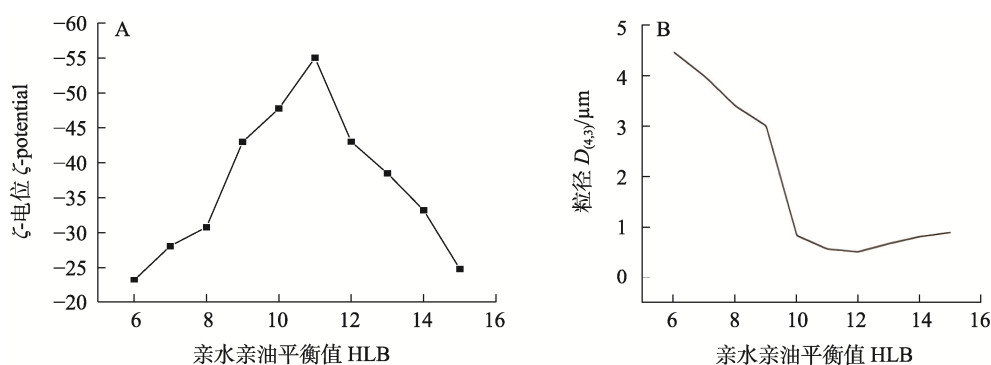


图 3 HLB 对乳液 ζ -电位的影响 (A) 和 HLB 对乳液粒径的影响 (B)

Fig. 3 Effect of HLB on ζ -potential of emulsions (A) and Effect of HLB on $D_{4,3}$ of emulsions (B)

0.467 μm , 当 HLB>12 以后, 平均粒径稍有增加 (图 3B)。在使用单一乳化剂的情况下, 该体系可能只能乳化一部分胡椒油树脂, 可能无法达到完全乳化的目标。综合粒径的大小及 ζ -电位的状况, 选择 HLB 值为 11 的乳化剂进行后续试验。

2.5 不同含水量胡椒油树脂乳液的 DSC 结果分析

为了增加乳液中胡椒油树脂的配比, 对胡椒

油树脂的乳液特性作进一步的研究, 试验配制一系列不同含水量 (5%、15%、35%、55%、75% 和 95%) 的胡椒油树脂乳液, 乳液中各组分比例为胡椒油树脂: 乳化剂: 乙醇=1:1:3, 采用差示热量扫描仪对乳液各组分的热力学行为进行检测分析。图 4A 为以司盘 80 为乳化剂制备的胡椒油树脂乳液的 DSC 扫描图谱, 结果显示, 以司盘 80 为乳化剂制备的胡椒油树脂乳液未发现

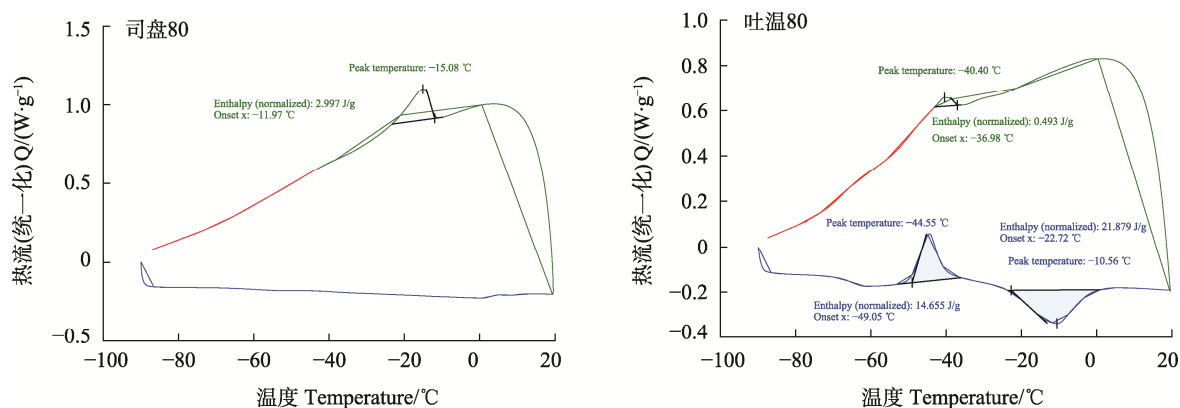


图 4 司盘 80 和吐温 80 的 DSC 扫描图

Fig. 4 DSC thermograms of span 80 and tween 80

明显的吸放热。以吐温 80 为乳化剂制备的胡椒油树脂乳液在升温期间有 2 个明显的吸放热峰(图 4B)。随着降温速率增加,分子重排成新有序排列后,分子间作用力增强,导致吸热反应发生。出于平稳升温的考虑,吐温 80 分子的重排为规则结构, $-49\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右发生冷结晶,并且因此出现了放热峰,放热强度为 14.66 J/g ,当气温升高到约 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,吐温 80 熔融产生吸热峰,吸热量为 21.88 J/g 。乳液的组分还有乙醇、胡椒油树脂等,乙醇熔点在 $-114.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,胡椒油树脂的熔点约为 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$,均不属于本研究的扫描温度区间,因此,随后 DSC 图谱上主要吸放热峰均可认为是乳液中吐温 80 与去离子水对体系热行为

的影响。

从图 5 可以看出,胡椒油树脂乳液体系中含水量为 5% 时,乳液的 DSC 图谱上未发现明显吸放热峰。乳液的含水量为 35% 时,放热峰的温度(Peak temperature)开始上升,这可能是随着乳液体系中含水量的增加,亲水基团直接与吐温 80 溶液结合,吐温 80 分子活性减弱,使乳化剂分子重排温度上升的原因。乳化剂分子之间会产生静电作用力,从而导致乳化剂分子间形成氢键结构。另外,乳化剂分子之间也存在范德华力作用,因此在一定程度上能影响乳化效果^[25]。当含水量增加至 55% 时,乳液转变为单峰。随着乳液水分含量的上升,出峰温度逐渐向 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 靠近,从 $-8.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $-5.74\text{ }^{\circ}\text{C}$ (图 5)。

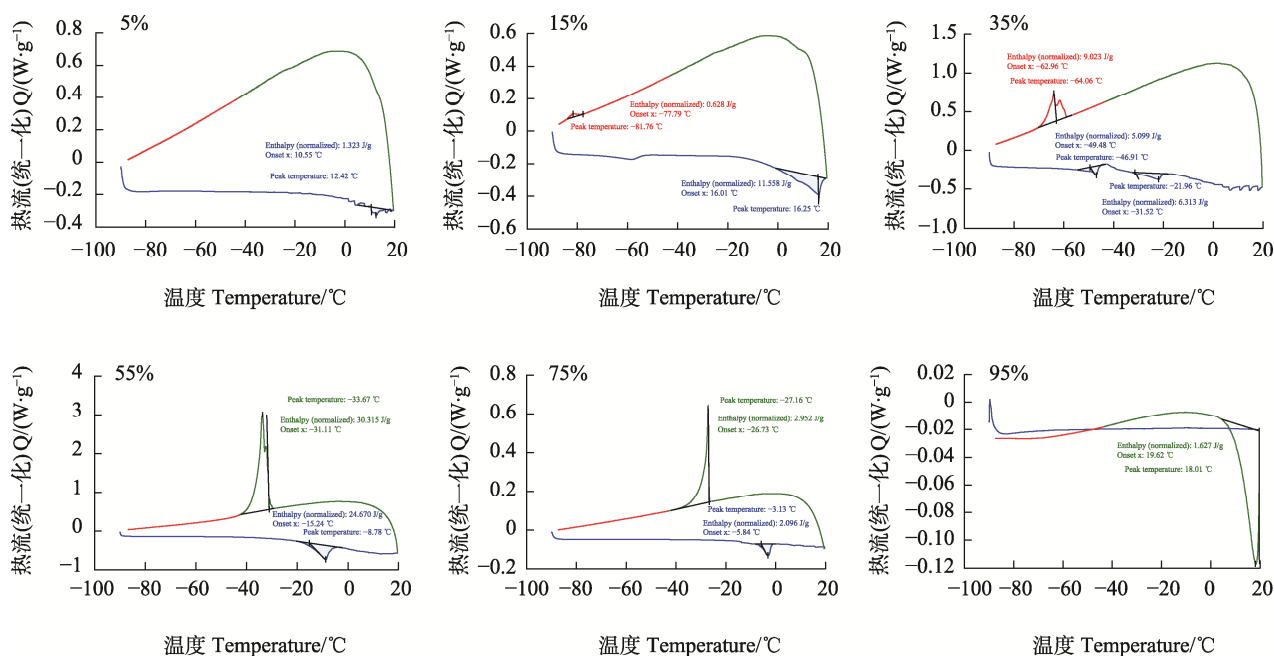


图 5 不同含水量的乳液的 DSC 扫描图

Fig. 5 DSC thermograms of emulsions with different moisture content

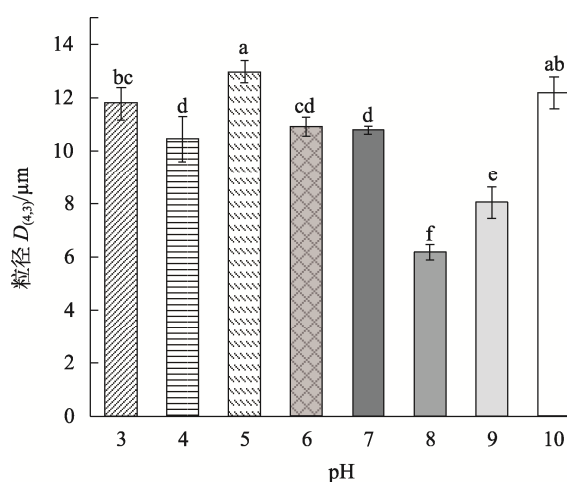
2.6 胡椒油树脂乳液的稳定性

2.6.1 pH 对胡椒油树脂乳液稳定性的影响 pH 为 5.0 条件下,吐温 80 和司盘 80 混合配制的胡椒油树脂乳液经 24 h 储藏后出现明显分层,原因可能是 pH 偏低时,净负电荷下降,致使静电斥力不够,不能抑制油滴的积聚,从而产生乳液分层。当 pH 8.0~9.0 时,以吐温 80 和司盘 80 为复合乳化剂制成的胡椒油树脂乳液不分层、比较稳定且均一(图 6)。

2.6.2 离子强度对胡椒油树脂乳液稳定性的影响 乳液体系的离子强度会对带电粒子稳定剂在油水界面的堆积行为产生一定的影响。乳液在贮藏

24 h 后发生明显分层,随着 NaCl 浓度从 0 增加到 5 mmol/L ,乳液的液滴粒径逐渐增加,从 $7.9\text{ }\mu\text{m}$ 逐渐增加到 $21.4\text{ }\mu\text{m}$ (图 7)。这个现象表明,盐的加入会对乳液产生静电屏蔽作用,并进一步促进油滴的接触,导致油滴聚集,影响乳液的稳定性。由此可知,NaCl 能影响胡椒油树脂的稳定性。

2.6.3 胡椒油树脂乳液的储藏稳定性 乳液粒径分布及变化可以有效地反映乳液稳定性。研究发现,储藏期间胡椒油树脂的粒径略有增大的趋势,但是粒径整体上处于 $50\text{ }\mu\text{m}$ 范围内。随储藏时间增加,各乳液粒径基本上均随着时间增加而增大,其原因也许是随时间推移,乳液粒子之间互相撞

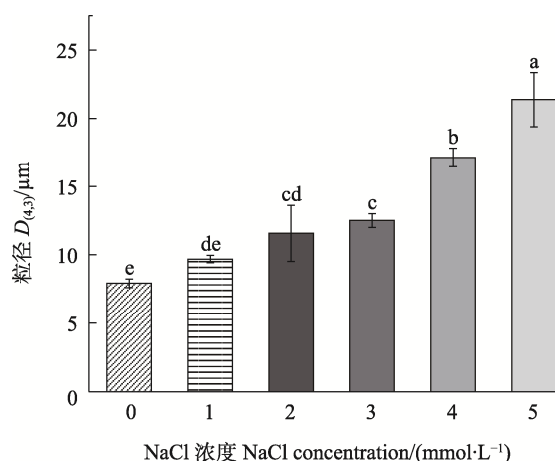


不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 6 pH 对乳液的液滴粒径 $D_{(4,3)}$ 的影响

Fig. 6 Effect of pH on droplet diameter $D_{(4,3)}$



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 7 离子强度对乳液的液滴粒径 $D_{(4,3)}$ 的影响

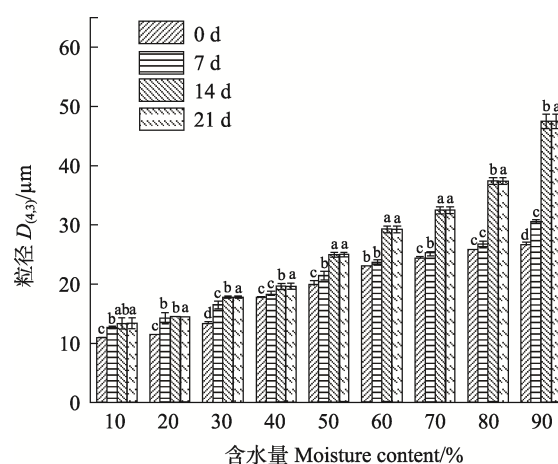
Fig. 7 Effect of salt concentration on droplet diameter $D_{(4,3)}$

击的可能性增大, 粒子较易凝聚, 因而使粒径变大^[26]。整体上粒径增加不显著, 特别是含水量为 10%~40% 乳液体系, 乳液粒径储藏 21 d 几乎无改变, 而水分含量大于 50% 的乳液粒径则在 7 d 以后呈显著上升趋势 (图 8)。这在一定程度上说明含水量低的乳液相对更稳定。

3 讨论

3.1 冻干青胡椒油树脂的提取及成分分析

本研究以冻干青胡椒为试验对象, 采用超声波-微波协同萃取、低温浓缩获得冻干青胡椒油树脂, 该工艺凭借超声破碎与微波体内加热的协同效应, 在温和条件下 (60 $^{\circ}\text{C}$, 300 W) 实现了高



不同小写字母表示同一含水量条件下差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference under the same moisture content condition ($P < 0.05$).

图 8 不同含水量对乳液的粒径大小 $D_{(4,3)}$ 及储藏稳定性的影响

Fig. 8 Effect of moisture content on droplet diameter $D_{(4,3)}$ and storage stability of emulsions

得率与高胡椒碱含量的提取^[10], 极大缩短了胡椒油树脂的提取时间, 为后续胡椒油树脂的成分分析及乳化研究奠定了原料基础。

香气是决定胡椒油树脂的关键因素, 采用超声波-微波协同萃取仅需十几分钟即可完成胡椒的有效成分提取, 减少了胡椒香气成分的损失。利用 GC-MS 对冻干青胡椒油树脂进行成分分析, 共检测出 37 种挥发性化合物, 主要为单萜烯和倍半萜烯类化合物。含量相对较高的成分有 β -石竹烯 (210.83 mg/mL)、 δ -榄香烯 (64.93 mg/mL)、(-)- α -萜荳蔻烯 (20.28 mg/mL) 等, 与周雪敏等^[9] 研究报道的超临界法萃取的黑胡椒油树脂中主要成分为 β -石竹烯 (53.70%) 相符。

3.2 冻干青胡椒油树脂的乳化

胡椒油树脂的乳化是其应用拓展的关键, 其核心挑战在于如何克服高疏水性及易析晶特性带来的不稳定性。由于乳化剂具有一定的极性, 使其与水或油之间可发生静电相互作用, 从而降低体系的表面张力。但单一的乳化剂往往难以在界面形成致密且牢固的膜, 乳化剂复配可增强乳化能力并产生协同效应, 高 HLB 值和低 HLB 值的乳化剂复配, 可分别为乳液提供疏水和亲水链, 通过改变表面活性剂种类或比例可以控制乳状液的组成及形态, 表现出油水两用的特点, 从而达到对其性能调控目的。本研究采用系统筛选, 通过粒径、浊度和电位的测定, 发现吐温 80/司盘

80复配体系在乳化能力与乳液感官品质上均表现最佳,其理想HLB值为11。低HLB值的司盘80(油溶性)和高HLB值的吐温80(水溶性)在油-水界面上可共同吸附,形成紧密的复合膜^[20-23]。本研究通过粒径与 ζ -电位分析证实,当HLB为11时,乳液液滴最小(0.467 μm),分布最集中,且 ζ -电位绝对值相对较高,表明该条件下乳液同时具备了良好的空间稳定性与静电稳定效应。这与HONG等^[22]和YAN等^[18]的研究结论一致,即合适的HLB值是实现液滴均匀分散和长期稳定的前提。

本研究将DSC技术应用于该乳液体系的热行为分析。结果显示,吐温80在体系中主导了-49℃左右的冷结晶放热峰和约-10℃的熔融吸热峰。随着水分含量从5%增加至95%,这些热特征峰的位置和形状发生规律性变化,直观地反映了水分与乳化剂分子间相互作用的增强,以及由此带来的分子运动性改变。这从热力学角度揭示了水分不仅是分散介质,更是参与并调控乳化剂相行为的关键组分,为了解乳液稳定性提供新的微观视角。

3.3 乳液的稳定性研究

乳液的稳定性是一个受多种环境因素影响的综合指标。本研究系统考察了pH、离子强度(NaCl)和含水量三者的影响,并找到了最优的协同作用区间:pH 8.0~9.0、无NaCl添加、含水量95%。在pH稳定性方面,酸性条件(pH 5.0)下乳液迅速分层,这主要是因为非离子型乳化剂虽对pH不敏感,但油树脂中可能含有的某些酸性成分或微量离子型杂质在低pH下会削弱液滴间的静电斥力,导致絮凝和聚集。而在弱碱性条件下,体系更为稳定。在离子强度方面,即使低浓度的NaCl(1~5 mmol/L)也会导致乳液粒径显著增大。这一现象符合DLVO理论,盐离子的加入压缩了液滴的双电层,产生了静电屏蔽效应^[22],降低了液滴间的排斥能垒,从而促进了聚集。低含水量(10%~40%)乳液在21 d的储藏期内表现出极佳的物理稳定性,粒径几乎无变化。这可能是由于连续相黏度高,极大地抑制了油滴的布朗运动和碰撞频率,从而延缓了奥斯特瓦尔德熟化与聚集。这一结论为开发高浓度、长货架期的胡椒油树脂调味酱或膏状产品提供直接的理论与实验依据。而高含水量(>50%)乳液尽管在初始状

态下粒径较小,但在储藏后期粒径增长显著,更适合于需要短期稳定性的液态调味品或饮料体系。

尽管本研究优化了提取与乳化工艺,并深入探讨了稳定机制,但仍存在可进一步探索的空间。其一,乳液中胡椒碱、风味物质等在模拟胃肠道环境中的释放动力学,以及在真实食品基质(如肉制品、酱料)中的风味保留与功能表现,是评价其应用价值的关键。其二,为顺应“清洁标签”趋势,探索大豆蛋白、改性淀粉等天然大分子与合成乳化剂的协同稳定作用,也将是未来的研究方向。

4 结论

超声波-微波协同萃取可用于冻干青胡椒油树脂的快速提取,其中的主要挥发性成分为 β -石竹烯(210.83 mg/mL)、 δ -榄香烯(64.93 mg/mL)、(-)- α -荜澄茄油烯(20.28 mg/mL)、 α -石竹烯(17.34 mg/mL)等。本研究选用吐温80与司盘80复配乳化剂构建胡椒油树脂乳液体系,复合乳化系统的理想亲水亲油平衡值(HLB)约为11。研究不同pH、离子强度以及含水量对乳液稳定性的影响,研究发现:pH介于8.0~9.0之间,不添加NaCl,含水量95%条件下,所得胡椒油树脂乳液具有较低的粒径,理化性质较稳定。研究结果对于胡椒油树脂的合理开发和利用具有重要意义。

参考文献

- [1] MEGHWAL M, GOSWAMI T K. *Piper nigrum* and piperine: an update[J]. *Phytotherapy Research*, 2013, 27(8): 1121-1130.
- [2] 乔丽艳, 罗断节, 陈登峰, 周剑峰, 杜博. 胡椒外用健康产品的开发研究[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(6): 151-153.
QIAO L Y, LUO D J, CHEN D F, ZHOU J F, DU B. Studies on the health series product of pepper for external use[J]. *China Practical Medicine*, 2008, 3(6): 151-153. (in Chinese)
- [3] 包振伟, 顾林, 白东辉, 王金玺, 刘笑. 响应面法优化黑胡椒油树脂提取工艺[J]. *食品科学*, 2013, 34(14): 17-21.
BAO Z W, GU L, BAI D H, WANG J X, LIU X. Optimization of extraction process for black pepper oleoresin using response surface methodology[J]. *Food Science*, 2013, 34(14): 17-21. (in Chinese)
- [4] 周雪敏, 朱科学, 房一明, 吴桂苹, 谷凤林. 黑胡椒油树脂乙醇浸提工艺研究[J]. *中国调味品*, 2016, 41(10): 1-7.
ZHOU X M, ZHU K X, FANG Y M, WU G P, GU F L.

- Study on ethanol extraction process of oleoresin from black pepper[J]. China Condiment, 2016, 41(10): 1-7. (in Chinese)
- [5] 周叶燕, 樊亚鸣, 高绍中, 陈永亨. 动态-微波法提取黑胡椒油树脂的中试研究[J]. 食品科技, 2009, 34(11): 175-179. ZHOU Y Y, FAN Y W, GAO S Z, CHEN Y H. Study on dynamic-microwave extraction of black pepper oleoresin in pilot experiment scale[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(11): 175-179. (in Chinese)
- [6] OLALERE O A, ABDURAHMAN N H, ALARA O R, HABEEB O A. Parametric optimization of microwave reflux extraction of spice oleoresin from white pepper (*Piper nigrum*)[J]. Journal of Analytical Science and Technology, 2017, 8(1): 8.
- [7] 李平凡, 聂青玉, 陈鲁, 林一杰, 李锦和, 王尧舜, 叶清娜, 韦楚旭. 超声法制备胡椒油树脂工艺研究[J]. 食品科技, 2010, 35(2): 60-62. LI P F, NIE Q Y, CHEN L, LIN Y J, LI J H, WANG Y S, YE Q N, WEI C X. Study on pepper oleoresin ultrasonic assisted extraction from pepper[J]. Food Science and Technology, 2010, 35(2): 60-62. (in Chinese)
- [8] 吴桂苹, 贾雯, 谷凤林, 谭乐和, 张卫明, 张锋伦. 超声波-微波辅助溶剂提取胡椒鲜果油树脂的工艺研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(5): 124-129. WU G P, JIA W, GU F L, TAN L H, ZHANG W M, ZHANG F L. Study on the extraction of oleoresin from fresh fruit of pepper by ultrasonic and microwave assisted solvent[J]. China Condiment, 2019, 44(5): 124-129. (in Chinese)
- [9] 周雪敏, 朱科学, 杨继敏, 房一明, 吴桂苹, 谷凤林. 超临界法萃取的黑胡椒油树脂成分分析[J]. 热带农业科学, 2016, 36(6): 54-58. ZHOU X M, ZHU K X, YANG J M, FANG Y M, WU G P, GU F L. Composition profile of black pepper oleoresin obtained by supercritical extraction[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2016, 36(6): 54-58. (in Chinese)
- [10] 吴桂苹, 初众, 谷凤林, 谭乐和, 朱红英, 宗迎. 不同提取方法对黑胡椒油树脂得率及其胡椒碱含量的影响研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(12): 2467-2470. WU G P, CHU Z, GU F L, TAN L H, ZHU H Y, ZONG Y. Effect of different extraction methods on pepper oleoresin and piperine content[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(12): 2467-2470. (in Chinese)
- [11] 宋美娜, 牡丹竹, 全其根. 胡椒油树脂的乳化及其稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2011(3): 138-143. SONG M N, DU D Z, TONG Q G. Research on the emulsification and stability of pepper oleoresin[J]. China Food Additives, 2011(3): 138-143. (in Chinese)
- [12] 陈星星, 宋丽, 谷凤林, 吴桂苹, 陶锐. 胡椒油树脂乳液的制备[J]. 热带作物学报, 2021, 42(3): 854-861. CHEN X X, SONG L, GU F L, WU G P, TAO R. Preparation of pepper oleoresin emulsion[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(3): 854-861. (in Chinese)
- [13] CHEN Q, DONG W, WEI C, HU R S, LONG Y Z. Combining integrated ultrasonic-microwave technique with ethanol to maximise extraction of green coffee oil from Arabica coffee beans[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 151: 112405.
- [14] 段梦雅, 王福清, 吴桂苹, 李鑫, 谷凤林, 林毅, 侯梅芳. 4 种胡椒精风味特征分析[J]. 食品科学, 2022, 43(8): 213-219. DUAN M Y, WANG F Q, WU G P, LI X, GU F L, LIN Y, HOU M F. Analysis of flavor characteristics of four pepper essential oil[J]. Food Science, 2022, 43(8): 213-219. (in Chinese)
- [15] 李鑫, 王福清, 吴桂苹, 段梦雅, 谷凤林. 3 种脱皮方式对白胡椒品质的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(15): 79-86. LI X, WANG F Q, WU G P, DUAN M Y, GU F L. Effects of three peeling methods on the quality of white pepper[J]. Food Science, 2022, 43(15): 79-86. (in Chinese)
- [16] 齐宝坤, 赵城彬, 李杨, 隋晓楠, 王欢, 江连洲. 绿豆分离蛋白-葡聚糖接枝物的乳化性质研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(10): 69-76. QI B K, ZHAO C B, LI Y, SUI X N, WANG H, JIANG L Z. Research on emulsifying properties of mung bean protein isolate-dextran conjugates[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(10): 69-76. (in Chinese)
- [17] 邱亦亦. 昆仑雪菊油树脂的提取、纳米乳液制备及其抑菌活性评价[D]. 杭州: 浙江大学, 2020. QIU Y Y. Extraction, nano-emulsion preparation and antimicrobial effects of *Coreopsis tinctoria* Nutt. oleoresin[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020. (in Chinese)
- [18] YAN G S, WANG S R, LI Y, HE L Q, LI Y, ZHANG L B. Effect of emulsifier HLB on aerated emulsions: stability, interfacial behavior, and aeration properties[J]. Journal of Food Engineering, 2023, 351: 111505.
- [19] 余权, 赵强忠, 赵谋明, 王琳. 乳化剂 HLB 值对含大豆蛋白搅打稀奶油的搅打性能及质构特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(10): 11-14. YU Q, ZHAO Q Z, ZHAO M M, WANG L. Effects of HLB value of emulsifier on whipping properties and textural characteristics of whipped cream containing soybean protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(10): 11-14. (in Chinese)
- [20] SCHMIDTS T, DOBLER D, GULDAN A C, PAULUS N,

- RUNKEL F. Multiple W/O/W emulsions: using the required HLB for emulsifier evaluation[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2010, 372(1/3): 48-54.
- [21] 黎明珠, 唐敏敏, 王挥, 张玉锋, 杨金燕, 赵文斌, 宋菲. 乳化剂亲水亲油平衡值对椰子油基搅打稀奶油品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2025, 51(10): 257-263.
- LI M Z, TANG M M, WANG H, ZHANG Y F, YANG J Y, ZHAO W B, SONG F. Effects of emulsifier hydrophilic lipophilic balance value on quality of virgin coconut oil-based whipped cream[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2025, 51(10): 257-263. (in Chinese)
- [22] HONG I K, KIM S I, LEE S B. Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2018, 67: 123-131.
- [23] 王君文, 韩旭, 李田甜, 于国萍. 乳化剂稳定乳液的机理及应用研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 303-310.
- WANG J W, HAN X, LI T T, YU G P. Mechanism and application of emulsifiers for stabilizing emulsions: a review[J]. *Food Science*, 2020, 41(21): 303-310. (in Chinese)
- [24] 常旋, 王根女, 黄国周, 张佳靓, 徐春明, 陈雄. 维生素 E 对 β -胡萝卜素纳米乳液性质及其饮料稳定性的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(6): 56-62.
- CHANG X, WANG G N, HUANG G Z, ZHANG J L, XU C M, CHEN X. Effects of vitamin E on the properties of β -carotene nanoemulsions and beverage stability[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(6): 56-62. (in Chinese)
- [25] ZHAO J, JIANG K, CHEN Y, CHEN Y, ZHENG Y F, YU H L, ZHU J J. Preparation and characterization of microemulsions based on antarctic krill oil[J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(10): 492.
- [26] PERIASAMY V S, ATHINARAYANAN J, ALSHATWI A A. Anticancer activity of an ultrasonic nano emulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2016, 31: 449-455.