

基于Pickering乳液稳定机理的水包水乳液研究进展

缙青霞, 姚晓琳*, 韦湘滢, 岳健雄, 岳娟, 李丹
(陕西科技大学食品科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘要: 水包水乳液是由两种热力学互不相溶的亲水性高分子水溶液以一定比例混合形成, 具有极低的界面张力和较厚的界面层, 采用表面活性剂无法实现体系稳定, 可通过将一相或两相凝胶化的方式来避免宏观相分离。近年来研究发现, 基于Pickering水包油乳液的稳定机理, 固体颗粒在界面上的不可逆吸附可不同程度地提升水包水乳液的稳定性。本文总结了近年来水包水乳液稳态化的研究进展, 并重点阐述了固体颗粒吸附的水包水乳液的稳定性及其影响因素, 同时列举了其在食品领域中的应用, 以期通过水包水乳液稳态化策略实现食品结构设计提供新的思路。

关键词: 水包水乳液; 固体颗粒; Pickering乳液; 稳定机理; 界面吸附

Advances in Research on Water-in-Water Emulsions Based on the Stabilization Mechanism of Pickering Emulsions

GOU Qingxia, YAO Xiaolin*, WEI Xiangying, YUE Jianxiong, YUE Juan, LI Dan
(School of Food Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstracts: Water-in-water emulsions, which have a very low interfacial tension and a thick interfacial layer, are formed by two thermodynamically incompatible hydrophilic macromolecules in a certain proportion. It has been reported that the system cannot be stabilized by surfactants, but can avoid macroscopic phase separation by gelation of one or two phases. Recently, it has been found that the stability of water-in-water emulsions can be improved by the irreversible adsorption of solid particles at the interface based on the stabilization mechanism of oil-in-water Pickering emulsions. In this review, we summarize recent advances in research on the stabilization of water-in-water emulsions, and focus on the stability of Pickering emulsions stabilized by solid particles and its influential factors, as well as its applications in the food field. It is expected that this review will provide new ideas for food structure design based on the stabilization of water-in-water emulsions.

Keywords: water-in-water emulsions; solid particles; Pickering emulsions; stabilization mechanism; interface adsorption

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220622-236

中图分类号: TS201.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)13-0289-08

引文格式:

缙青霞, 姚晓琳, 韦湘滢, 等. 基于Pickering乳液稳定机理的水包水乳液研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(13): 289-296.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220622-236. <http://www.spkx.net.cn>

GOU Qingxia, YAO Xiaolin, WEI Xiangying, et al. Advances in research on water-in-water emulsions based on the stabilization mechanism of Pickering emulsions[J]. Food Science, 2023, 44(13): 289-296. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220622-236. <http://www.spkx.net.cn>

水包水(W/W)乳液由两种热力学互不相溶的亲水性高分子水溶液以一定比例混合形成, 在非稳态下宏观上会形成互不相溶的两相, 即“双水相体系”^[1]。W/W乳液中不含任何有机溶剂和表面活性剂, 具有安全无毒、绿色

环保、生物相容性好等优点, 近年来被应用于人造生物反应器、营养活性物质的包载, 同时, 基于可食用配方的结构化W/W乳液可作为富含膳食纤维和水溶性营养素的低能量功能性食品。

收稿日期: 2022-06-22

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32272475)

第一作者简介: 缙青霞(1998—)(ORCID: 0000-0001-6124-0372), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品胶体功能化。

E-mail: gouqingxia24@163.com

*通信作者简介: 姚晓琳(1982—)(ORCID: 0000-0002-1327-1374), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品胶体功能化。

E-mail: yaoxiaolin1113@163.com

与传统的油包水(W/O)乳液不同, W/W乳液拥有极低的表面张力(10^{-6} N/m)^[2-3]和较大的界面厚度(几到十几纳米)^[4]。较大的界面厚度不允许小分子表面活性剂跨越整个相界面, 因此W/W乳液无法使用表面活性剂分子来稳定, 这对于W/W乳液的稳态化是一个极大的挑战。W/W乳液的稳定机理可以参考Pickering水包油(O/W)乳液的稳定机理^[5-6]。研究表明, 多种高分子聚集体可吸附于油-水界面, 得到稳定的Pickering型O/W乳液^[7], 且进一步研究发现, 高分子聚集体同样能够在W/W界面吸附, 实现W/W乳液稳态化, 这为采用W/W乳液稳态化策略实现食品结构设计开辟了新的途径。本文从W/W乳液的构建、W/W乳液稳定策略及其在食品领域中的应用等方面进行综述, 重点归纳基于Pickering乳液稳定机理实现W/W乳液的稳态化调控, 以及W/W乳液作为营养活性物质递送体系的应用特点。

1 W/W乳液的构建

1.1 W/W乳液的形成机理

天然高分子由于带电性质、分子质量及分子亲和力等方面存在差异, 当两种或两种以上天然高分子溶液按一定比例混合时, 会自然发生相分离。相分离分为结合型相分离和离散型相分离^[8], 如蛋白-多糖体系, 根据实际情况, 二者在一定条件下能够自发地生成可溶性复合物均一相、凝聚体两相、相分离两相、共溶一相(图1)。结合型相分离是由于天然高分子所带相反电荷而发生静电结合的结果。离散型相分离是由于两种天然高分子间热力学不相容, 分子间倾向于同种分子相容、异种分子相斥, 从而发生二者分别富集于两相的过程, 离散型相分离是W/W乳液形成的前提。

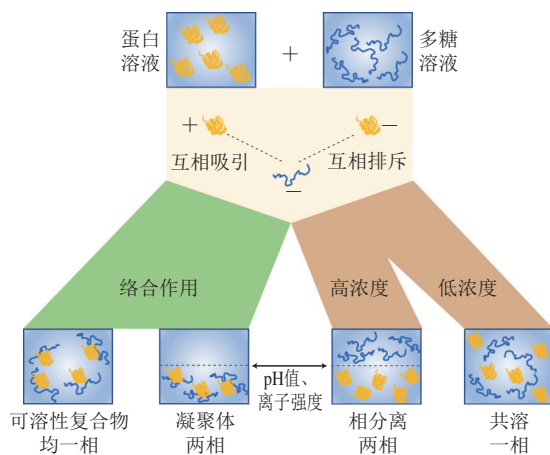


图1 蛋白质多糖双组分生物聚合物体系的可能相互作用^[9]

Fig. 1 Possible interactions for a two-component biopolymer system containing protein and polysaccharide^[9]

W/W乳液是利用两种亲水性天然高分子自发的离散型相分离行为而形成的分散体系。由于两种天然高分子

间热力学不相容^[10], 当不带电荷或带有相反电荷时, 极小的混合熵极易被高分子间的排斥作用抑制, 导致每一相中富含一种亲水性组分, 并在另一相中达到饱和^[5-11]。当聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)和葡聚糖(dextran, Dex)水溶液以一定比例混合时, 二者的水溶液互不相溶, 当达到分离的临界浓度时, 即会发生宏观相分离。将两种高分子按不同浓度比例混合并静置, 可通过绘制相图表征两种高分子的混合状态, 反映二者在不同组分浓度下的相态变化^[12]。如图2所示, 双节点曲线将单相区和双相区分隔开, 曲线以下部分为相融合区, 以上为相分离区。在相融合区内, 混合体系中两种高分子分散均匀, 处于相容状态。当处于相分离区, 混合体系中的高分子由于热力学不稳定而发生离散型相分离。

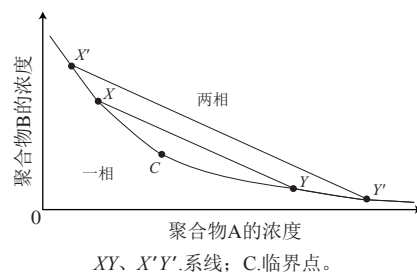


图2 热力学不相容的两种聚合物A和B水溶液的相图^[13]

Fig. 2 Phase diagram for a solution of two polymers A and B with thermodynamic incompatibility^[13]

1.2 乳液的制备方法

双水相体系模型主要包括两种互不相溶的高分子水溶液。在食品领域中, 天然高分子聚合物多糖-蛋白体系研究得最为广泛, 如明胶-Dex、明胶-麦芽糊精等; 而由多糖-多糖组成的W/W乳液体系研究相对较少, 如普鲁兰多糖-支链淀粉; 合成高分子聚合物体系(如PEG-Dex)以及小分子盐-聚合物体系(如硫酸钠-PEG)常被用于W/W乳液基础研究, 但小分子盐-聚合物体系在食品领域中应用较少。两种高分子水溶液在适当浓度、特定pH值下混合后即可形成双水相体系。W/W乳液的制备方法与传统乳液相似, 通过磁力搅拌、振荡、剪切等机械力作用即可得到, 此外, 近年来新开发出的微流控技术也适用于W/W乳液制备。

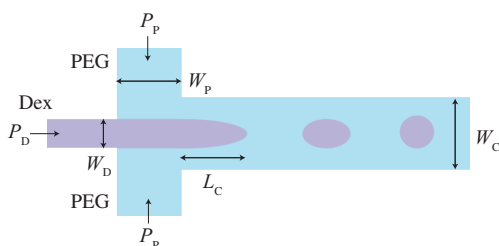
1.2.1 机械力作用

通过在双水相体系中施加机械力来制备W/W乳液, 体积分数较小的为内相, 在两相体积分数相近时可发生相转变, 在体积比为50:50的转化点附近可形成双连续乳液^[11]。O/W乳液通常使用超声乳化或高压均质等方法制备, 借助超声波能量或强烈的剪切力和压力等达到破碎和乳化的效果。但由于双水相极低的界面张力和较大的界面厚度, 高压均质机及高速分散机的剪切力能量过高, 容易破坏水-水界面, 难以制备出稳定的乳液, 一般使用磁力搅拌或振荡即可制备。针对于现有技术制备W/W乳液的缺陷, 刘石林等^[14]于2021年报道了一种一步法

生成稳定W/W型Pickering乳液的方法，其利用撞击流的剪切分散和固体颗粒的乳化作用，首先在连续相中引入固体颗粒稳定剂，然后利用两股连续相撞击流的撞击剪切作用，在撞击形成的高度湍流区引入分散相，生成稳定的W/W型Pickering乳液，该方法解决了现有W/W乳液难以大规模制备的问题。

1.2.2 微流控技术

在实验室规模的W/W乳状液研究中，可以应用微流控技术制备W/W乳液。Song Yang等^[15]开发了一种毛细管微流控装置来制备单分散W/W乳液，作为分散相的5%（质量分数，下同）Dex在不相容的连续相1% PEG中可形成丝状射流，当分散相驱动压力周期性变化时，微射流被破碎成数个液滴，形成W/W乳液。此外，通过微流控可更好地控制W/W乳液液滴的大小和形貌^[16]。Moon等^[17]设计了一种简单的微流控系统并成功制备出PEG与Dex的W/W乳液（图3）。将分散相Dex溶液和连续相PEG垂直注入微流控芯片入口，仅通过施加微弱的静水压力即可形成W/W乳液。Dex溶液作为内流引入，被PEG相包裹成一条细丝状流体后再被分解成细小液滴。通过改变双水相流体的黏度，并调整流体入口处的液柱高度控制液滴大小，成功制备出了液滴尺寸变异系数小于1%的W/W乳液。但由于微流控技术制备量小，目前其仅适用于实验室规模研究，但可用来测算量产工艺参数，其液滴具有单分散性，使得在包载营养活性物质时其释放速率可根据产品特性进行调控^[18-19]，是制备W/W乳液的有效途径之一。



P_D 和 P_P 分别为Dex和PEG的进口压力； W_D 、 W_P 和 W_C 分别为Dex、PEG和下游通道的尺寸； L_C 流动聚集在下游的临界距离。

图3 微流控通道中双水相液滴形成的图像^[17]

Fig. 3 Image of aqueous two-phase systems droplet formation in a microfluidic channel^[17]

2 固体颗粒稳定的W/W乳液

W/W乳液通过混合互不相容的高分子水溶液即可制得，然而，由于两性性分子在水-水界面难以吸附，W/W乳液的动力学稳定性很难得到控制^[20]。与油-水界面和气-水界面相比，水-水界面是较为宽泛且模糊的。研究发现，由于水-水界面厚度（几到几十纳米）远大于油-水界面厚度，小分子表面活性剂无法跨越整个水-水两相界面，因此，传统的乳化剂并不能有效稳定W/W乳液。通过将W/W乳液中的一相（连续相）或者两相凝胶化，

可抑制宏观相分离从而提高乳液稳定性，也可使用由3种聚合物合成的三嵌段共聚物^[21]来稳定W/W乳液。近年来，Pickering型O/W乳液因其独特的优势及良好的应用前景而备受关注，研究者受到固体颗粒在油-水界面吸附特性的启发，将固体颗粒引入水-水界面，进一步研究其在界面上的吸附行为。

研究者对W/W型Pickering乳液进行研究发现，固体颗粒可吸附于水-水界面上，通过在界面上形成一个空间能障来阻止乳液聚集，从而达到稳定W/W乳液的目的（图4）。Poortinga等^[22]将固体脂肪微粒加入到互不相容的Dex和甲基纤维素（methyl cellulose, MC）体系中，首次利用食品级固体颗粒稳定W/W乳液体系。Firoozmand等^[23]研究发现，在蛋白质-多糖的相分离体系中，聚苯乙烯微粒可吸附在水-水界面，有效阻止乳滴聚集，抑制宏观相分离的发生。越来越多的研究表明，天然高分子聚集体、无机微粒、微生物等在水-水界面上的吸附可实现W/W乳液的稳定。Nicolai等^[20]报道了固体颗粒稳定W/W乳液的研究进展，重点介绍了W/W乳液的稳定方法及影响因素，并通过与O/W乳液特性比较，推测了W/W乳液作为新功能食品的应用潜力。自2016年以来，关于W/W型Pickering乳液的研究报道数量呈显著递增趋势，表1列出了关于固体颗粒稳定的W/W型Pickering乳液的研究实例。

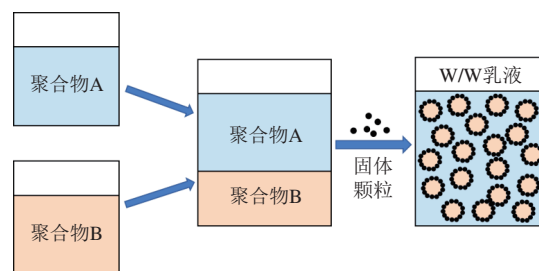


图4 两种生物聚合物组成的两相体系形成W/W乳液的示意图

Fig. 4 Schematic diagram of a W/W emulsion formed by a two-phase system consisting of two aqueous biopolymers

表1 固体颗粒稳定的W/W型Pickering乳液

Table 1 W/W Pickering emulsions stabilized by solid particles

两相组成	固体颗粒类型	参考文献
MC-Dex	脂肪颗粒、乳清蛋白颗粒	[22]
明胶-氧化淀粉	聚苯乙烯微粒	[23]
PEO-Dex	乳胶粒子、 β -乳球蛋白颗粒	[24]
PEO-Dex	β -乳球蛋白颗粒	[25]
淀粉-刺槐豆胶	二氧化硅纳米颗粒	[26]
明胶-麦芽糊精	单细胞微生物（保加利亚乳杆菌、酿酒酵母、螺旋藻和小球藻）	[27]
PEO-Dex	脂质体	[28]
PEO-Dex	聚合物凝胶微粒	[29]
明胶-Dex	三水铝石纳米板	[30]
酪蛋白-黄原胶	细菌	[31]
PEO-Dex	β -乳球蛋白分形聚集体（纤维状、球状、蠕虫状）	[32]
支链淀粉-木聚糖	β -乳球蛋白凝胶微粒	[33]
PEO-Dex	CNC	[34]
淀粉-刺槐豆胶	乳清蛋白凝胶微粒	[35]

续表1

两相组成	固体颗粒类型	参考文献
聚乙烯醇-Dex	甲氧基聚乙烯醇-脲酶颗粒	[36]
明胶-Dex	玉米醇溶蛋白颗粒	[37]
PEO-Dex	β -乳球蛋白颗粒	[38]
PEO-普鲁兰多糖	蒙脱石小片	[39]
PEG-Dex	聚乳酸小片	[40]
PEG-Dex	Polybead [®] 羧酸盐微球	[41]
PEO-Dex	CNC	[42]
PEG-Dex	聚苯乙烯乳胶微球	[43]
PEO-Dex	乳清分离蛋白- κ -卡拉胶复合微凝胶、乳清分离蛋白-壳聚糖复合微凝胶	[44]
PEO-Dex	聚苯乙烯乳胶微球	[45]
PEG-Dex	聚多巴胺纳米粒	[46]
PEO-Dex	壳聚糖、二氨基乙基葡聚糖和海藻酸丙二醇微粒	[47]
PEO-Dex	壳聚糖、乳清分离蛋白凝胶微粒	[48]
PEO-Dex	壳聚糖微粒	[49]
羟丙甲基纤维素-Dex	β -乳球蛋白凝胶微粒	[50]
PEG-Dex	胶原纳米纤维	[51]
PEO-Dex	黄原胶分子	[52]
普鲁兰多糖-支链淀粉	蛋白微凝胶(由乳清分离蛋白形成)	[53]
PEG-Dex	淀粉纳米晶体	[54]

注: PEO.聚环氧乙烷 (polyethylene oxide); CNC.纤维素纳米晶体 (cellulose nanocrystal)。

2.1 W/W型Pickering乳液的稳定机理

Pickering乳液稳定机理与固体颗粒在界面上的脱附自由能和接触角密切相关^[55]。固体颗粒的脱附自由能是指将吸附在两相界面的固体颗粒转移到体相中所需消耗的能量。从能量的角度进一步解析固体颗粒与乳液稳定性的关系发现,当固体颗粒吸附在两相界面时,脱附自由能取决于颗粒半径(r)、颗粒与界面的接触角(θ)以及界面张力(γ),具体关系如下式所示。

$$\Delta G = \pi r^2 \gamma_{AB} (1 - |\cos \theta|)^2$$

式中: ΔG 为脱附自由能J; γ_{AB} 为两相界面张力(N/m); r 为固体颗粒半径/m; θ 为颗粒与界面的接触角($^\circ$)。

从上式中可得出,固体颗粒脱附自由能的大小与 r 、 γ_{AB} 及 θ 呈正相关。 r 和 γ_{AB} 越大、 θ 越接近 90° ,固体颗粒的脱附自由能越大。固体颗粒在界面上的不可逆吸附增加了吉布斯脱附自由能,从而促进了乳液的稳定。Zhang Jianrui等^[46]在聚多巴胺纳米粒 (polydopamine nanoparticles, PDP) 存在的情况下,使用悬滴法研究了pH值对PEG (3%) 和Dex (7%) 溶液界面张力的影响,结果显示,随着pH值的升高,界面张力略有下降,从pH 2.0时的70 mN/m降低至pH 11.0时的60 mN/m,而无PDP添加的两相界面张力随着pH值的增加基本无变化,可见PDP的存在对界面张力影响并不大。但在测定PDP与PEG (3%) 和Dex (7%) 溶液间的接触角时发现,在接触角接近 90° 时,W/W乳液的液滴尺寸较小,乳液较稳定。结果表明, γ 对 ΔG 的影响不大, ΔG 更大程度上取决于固体颗粒在两相界面上的接触角 θ 。

2.2 影响W/W型Pickering乳液的因素

研究证明,固体颗粒对两相的亲合力、颗粒形态、大小、pH值等参数对W/W型Pickering乳液稳定性具有重要影响^[23,25,30-31,33,35]。固体颗粒主要通过影响乳液液滴的界面张力及接触角等(表现为固体颗粒在水-水界面的吸附特性)来影响W/W乳液的稳定性。

2.2.1 固体颗粒亲水性

在油-水乳液中,Pickering乳液类型取决于固体颗粒的亲合力,固体颗粒亲水时形成水包油型(O/W)乳液,即 θ 小于 90° ,而固体颗粒疏水形成油包水型(W/O),即 θ 大于 90° ^[56-57]。与之相同,W/W型Pickering乳液的类型与稳定性也取决于固体颗粒在两相界面处的吸附位置,即固体颗粒对两相的亲合力。固体颗粒需具有一定润湿性,可被两相部分润湿,从而形成吸附在界面上的颗粒稳定层,以达到稳定效果。固体颗粒的润湿性强弱通常用接触角评价,接触角决定了乳液类型及乳液稳定性。Gonzalez-Jordan等^[32]通过混合PEO和Dex制备W/W乳液,研究不同形貌蛋白质分形聚集体(球状、纤维状和蠕虫状)对W/W乳液稳定性的影响。结果表明,3种形貌蛋白质分形聚集体在相同pH值下(pH 3.0或pH 7.0)形成不同类型W/W乳液时,蛋白颗粒对连续相亲合力越高,乳液越稳定。为了进一步探究固体颗粒与两相的亲合力对W/W乳液稳定性的影响,Gonzalez-Jordan等^[45]研究了被乳清分离蛋白不同程度包被下的聚苯乙烯乳胶颗粒稳定的PEO/Dex和Dex/PEO两种乳液类型。结果显示,在无蛋白质存在下,颗粒更亲和PEO相,可形成稳定的Dex/PEO乳液;而经乳清分离蛋白包被后颗粒更亲和Dex相,可形成稳定的PEO/Dex乳液。由此可知,在双水相乳液体系中,当固体颗粒更亲和连续相时,有利于提高W/W乳液的稳定性。表明固体颗粒对两相的亲合力是影响W/W型Pickering乳液稳定性的重要参数之一,可通过调节颗粒的相偏好提高W/W乳液的稳定性。

2.2.2 固体颗粒形态

固体颗粒的形貌也是影响W/W乳液稳定性的重要参数,颗粒的形貌决定其在水-水界面上的排列形式,通过颗粒与界面的接触面积可直接影响其吸附稳定性,进而影响乳液稳定性。近年来采用不同形貌的固体颗粒稳定W/W乳液的研究层出不穷。Gonzalez-Jordan等^[32]制备了不同形貌的 β -乳球蛋白分形聚集体,包括纤维状、球状和蠕虫状,并研究了不同形貌蛋白质颗粒对PEO和Dex形成的W/W乳液的结构和稳定性的影响。结果显示,纤维状、球状和蠕虫状蛋白质分形聚集体均可稳定由PEO和Dex混合而成的W/W乳液。在连续相为Dex的乳液中,pH 3.0时,由蠕虫状蛋白颗粒吸附的乳液稳定性较好,而pH 7.0时纤维状颗粒能更有效地吸附在PEO液滴界面,蠕虫状蛋白颗粒的吸附效果较差。但在连续相为PEO的乳液中,

所有形貌的蛋白颗粒均不能达到稳定W/W乳液的效果。因此,不同形貌的蛋白颗粒对W/W乳液具有不同的稳定效果,同一颗粒对不同类型W/W乳液稳定效果也不同。乳液稳定性不仅取决于固体颗粒形貌,还取决于体系pH值及乳液类型。

CNC由于其可生物降解和安全无毒,具有很好的应用前景,近年来已成为研究热点。Peddireddy等^[34]2016年首次采用棒状颗粒CNC稳定Dex和PEO组成的W/W乳液体系。结果发现,棒状CNC可有序地平行排列在水-水界面上,实现液滴稳定,Ayed等^[42]也得到了该研究结果。综上所述,与球形颗粒相比,短棒状的CNC具有高长径比及高度各向异性,可规律性地排列于水-水界面上,吸附较多的颗粒形成一层较为致密的界面层,阻断液滴间的聚集,从而达到稳定W/W乳液的作用。

研究表明,由结晶氢氧化铝形成的直径约170 nm、厚度约7 nm的纳米板可吸附在水-水界面,达到稳定W/W乳液的效果^[30]。另外,Inam等^[40]研究了自组装形成的表面积可控、化学成分和厚度相同的聚乳酸(poly(L-lactide), PLLA)小片对PEG-Dex组成的W/W乳液稳定性的影响。研究表明,相同浓度下,较大的PLLA小片(约3.7 nm×106 nm)与较小的PLLA小片(约1.2 nm×105 nm)相比可得到液滴尺寸更小、稳定性更高的W/W乳液。板状颗粒更倾向于平铺在水-水界面上,与球形颗粒相比,由于纳米板比表面积大,其与液滴界面较大的接触面积可更有效地阻止液滴聚集,表现出较强的界面吸附性和乳液稳定性。

综上所述,可以推断,不同形貌的固体颗粒对W/W乳液的稳定性取决于颗粒在水-水界面的排列方式、颗粒与界面的接触面积以及颗粒在乳液液滴的界面覆盖率。棒状和板状颗粒不同于球形颗粒在水-水界面上的排列方式,且接触面积更大,使其在界面上形成更加致密的界面层,有效地阻止了液滴的聚集。并且,由于棒状和板状颗粒在液滴界面覆盖率高于球形颗粒,当达到同等稳定效果时,棒状和板状颗粒所需的浓度可能会低于球状颗粒的浓度。

2.2.3 体系pH值

一些固体颗粒呈现出pH敏感性,pH值的变化可影响其表面电荷,通过调控体系pH值可影响W/W乳液的稳定性。Nguyen等^[29]采用丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸和1,4-丁二醇二丙烯酸酯制成pH敏感的凝胶微粒来稳定Dex和PEO组成的W/W乳液体系。发现在pH 7.0~7.5的范围内,乳液可稳定至少1周,当继续提高体系pH值,乳液出现失稳。在不同类型Dex/PEO和PEO/Dex的W/W乳液中,在pH 6.5~8.0范围内,乳液液滴尺寸随pH值的升高先减小后增大,在pH 7.2时达到最小。乳液液滴尺寸越小,分散性越好,乳液稳定性越高。de Freitas等^[33]构建了

两种食用多糖——木聚糖(xyloglucan, XG)和支链淀粉(amylopectin, AMP)的水溶液混合形成的W/W乳液,探究了 β -乳球蛋白凝胶微粒(β -lactoglobulin microgels, β LGm)吸附的W/W乳液稳定性和乳液结构随pH值的变化规律。pH \leq 5.0时, β LGm可以稳定连续XG相中的AMP液滴,而在较高pH值下,由于 β LGm对AMP相的亲合力远高于XG相,无法吸附在两种不相容的多糖溶液形成的水-水界面,故乳液稳定性极差。Zhang Jianrui等^[46]发现PDP在不同pH值下对Pickering乳液的稳定性具有一定调控作用。在PEG和Dex组成的W/W乳液中,随着pH值的升高,乳液液滴尺寸逐渐减小,在强碱性条件下液滴尺寸减小到初始尺寸的20%。由此可知,由pH敏感的凝胶微粒稳定的W/W乳液稳定性呈现pH值依赖性,因此可设计pH响应的W/W型Pickering乳液,应用于一些水溶性物质的包载及递送。

2.2.4 固体颗粒浓度与尺寸

W/W乳液中增加颗粒浓度可一定程度提高界面处的颗粒密度,固体颗粒浓度会直接影响界面吸附量以及液滴尺寸,进而影响乳液稳定性。Zhang Jianrui等^[46]制备了由PDP稳定的不同混合比例下由PEG和Dex形成的W/W乳液,发现即使液滴尺寸在很大程度上取决于PEG和Dex的浓度。但在同一浓度配比时(如3% PEG、7% Dex),当PDP质量浓度从0.2 g/L增加至0.4 g/L和0.6 g/L时,相应的乳液液滴尺寸逐渐减小,从16 μ m分别降至12.3、5.81 μ m。因此可以推测,W/W型Pickering乳液的粒径随着固体颗粒浓度的增加而减小,当减小到一定值时粒径可保持稳定。低浓度的固体颗粒不足以抑制乳液聚集,增加其浓度可能会通过增加界面吸附量从而提高乳液稳定性。但当固体颗粒在两相界面上过量吸附时,极有可能因重力因素引发液滴沉降,导致微观相分离以及乳液失稳。

Nguyen等^[25]发现在含0.2%的蛋白颗粒的PEO和Dex的混合体系中,乳液中PEO液滴的尺寸取决于蛋白质颗粒的尺寸(控制CaCl₂的加入量可形成不同尺寸蛋白颗粒)。随着蛋白质颗粒尺寸的减小(蛋白颗粒尺寸:320、240、85、46、17、3 nm),液滴尺寸先减小后增加,在蛋白颗粒尺寸为85 nm时达到最小液滴尺寸。其原因可能是在相同蛋白质浓度下,固体颗粒数量随着尺寸的减小而增加,而过小尺寸蛋白颗粒并不能有效抑制PEO液滴聚集,从而导致液滴尺寸较大。

3 W/W乳液在食品领域中的应用

近年来,由于人们营养健康观念的增强,W/W乳液受到了越来越多的关注,关于其稳定性及应用也得到了更多的研究,其在食品中的应用主要集中在蛋白质纯化

和水溶性营养活性物质包载等方面。此外, W/W乳液在人造生物反应器、模拟细胞内反应、新型低热量食品(如脱脂食品)的开发及化妆品等领域也显示出广阔的应用前景。

3.1 蛋白质分离、提取与纯化

食品领域中双水相体系多存在于蛋白质和多糖的混合体系中, 两种天然高分子间发生相分离会形成富含蛋白的一相和富含多糖的另一相。因此, 可通过双水相体系从复杂生物混合物中分离和提取蛋白质。Padilha等^[58]研究了Burkholderia Cepacia脂肪酶在PEG和磷酸盐组成的双水相体系中的分配特性, 并对其进行分离纯化。Rathnasamy等^[59]利用双水相体系从木瓜蛋白酶粗提物中分离纯化木瓜蛋白酶。

3.2 水溶性营养活性物质的包载

食品级W/W乳液具有良好的生物相容性, 可用于设计水溶性营养活性物质的包载体系。水溶性营养活性物质如维生素、矿物质、生物碱、酶、萜类和甾醇类等常用于食品配方中, 然而部分水溶性营养活性物质如核黄素、乳糖酶等易受外界环境因素影响而发生分解和活性丧失, 因此, 构建水溶性营养活性物质的保护体系具有重要的实际应用意义。此外, 某些食品级固体颗粒对pH值具有一定敏感性, 可通过设计pH响应型W/W型Pickering乳液实现活性物质的包载、缓释和靶向递送。

核黄素具有消炎、抗癌、抗氧化等生理活性, 但日光及紫外光照射可引起其不可逆降解, 导致产品品质劣变, 如变色、异味、营养损失等。Chen Jiafeng等^[60]设计并构建了一种基于大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)与瓜尔豆胶(guar gum, GG)形成的W/W乳液用于包载水溶性核黄素。结果发现, 与GG相比, SPI与核黄素具有更强的相互作用, 因此, 该学者将核黄素分散于SPI中, 采用玉米醇溶蛋白-果胶复合颗粒来实现SPI/GG W/W乳液的稳态化, 并探究核黄素在加速光降解过程中的化学结构变化。结果表明, 紫外光照射8 h后, 包载于该W/W乳液中可有效延缓核黄素的光降解, 并最大程度地保护其色泽。由此可知, 由玉米醇溶蛋白-果胶复合颗粒稳定的SPI/GG乳液可用于递送水溶性营养活性物质核黄素, 这为食品中营养活性物质的包载提供了新思路。

乳糖不耐受患者数量占世界人口的70%^[61], 其是体内缺乏 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase, β -Gal)而导致的, 而游离形式的 β -Gal在胃肠道环境下极易失活。Beldengrun等^[62]在明胶-麦芽糊精组成的W/W乳液中将分散相明胶交联固化以实现 β -Gal的包载, 结果发现, 与未添加交联剂的微凝胶悬浮液相比, 随着交联剂浓度的增加和反应时间的延长, 在5 mmol/L京尼平与反应时间为90 min的条件下, β -Gal的包封率由16%提高至64%,

在4 °C下储存1周后, 交联强度较大的凝胶微球释放的酶较少, 可实现较高的包封率并同时保留较高酶活性。由该W/W乳液制备的交联型凝胶微球在食品工业中可作为乳糖不耐受患者补充 β -Gal的有效途径, 通过 β -Gal的外源供应来水解乳制品中的乳糖, 其作为脂质或淀粉模拟物用于生产低热量食品和饮料等方面具有潜在优势。

4 结 语

W/W乳液是由两种热力学互不相容的亲水性高分子水溶液以一定比例混合形成, 具有极低的界面张力和较厚的界面层, 采用表面活性剂无法实现体系稳定, 常通过将一相或两相凝胶化的方式来避免宏观相分离。基于Pickering水包油乳液的稳定机理, 采用固体颗粒在水-水界面上的不可逆吸附可不同程度地提升W/W乳液的稳定性。通过调控固体颗粒的尺寸和形貌、体系pH值等因素, 可实现W/W型Pickering乳液的稳态化调控, 在水溶性营养活性物质包载方面呈现出极大的应用潜力。与此同时, 探寻更多类型的食品级固体颗粒以稳定W/W型Pickering乳液, 以及探究固体颗粒在W/W乳液界面的吸附特性及表征方法将是未来研究的热点和方向。本文对近年来固体颗粒吸附的W/W乳液稳定性、影响因素及在食品领域中的应用研究进行深入系统的总结和讨论, 可为采用W/W乳液稳态化策略实现食品结构设计开辟新思路。

参考文献:

- [1] ZAFARANI-MOATTAR M T, HAMZEHADEH S. Liquid-liquid equilibria of aqueous two-phase systems containing polyethylene glycol and sodium succinate or sodium formate[J]. Calphad, 2005, 29(1): 1-6. DOI:10.1016/j.calphad.2005.01.004.
- [2] VIS M, PETERS V F D, BLOKHUIS E M, et al. Effects of electric charge on the interfacial tension between coexisting aqueous mixtures of polyelectrolyte and neutral polymer[J]. Macromolecules, 2015, 48(19): 7335-7345. DOI:10.1021/acs.macromol.5b01675.
- [3] NICOLAI T, MACHADO J P E. Effect of the interfacial tension on droplet association in aqueous multiphase systems[J]. Langmuir, 2021, 37(19): 5909-5915. DOI:10.1021/acs.langmuir.1c00398.
- [4] TROMP R H, VIS M, ERNÉ B H, et al. Composition, concentration and charge profiles of water-water interfaces[J]. Journal of Physics: Condensed Matter, 2014, 26(46): 464101. DOI:10.1088/0953-8984/26/46/464101.
- [5] MURRAY B S. Pickering emulsions for food and drinks[J]. Current Opinion in Food Science, 2019, 27: 57-63. DOI:10.1016/j.cofs.2019.05.004.
- [6] 田旭旺, 葛小会, 石兴博, 等. 纳米纤维素在Pickering乳液制备中的应用研究进展[J]. 日用化学工业, 2020, 50(3): 194-198. DOI:10.3969/j.issn.1001-1803.2020.03.010.
- [7] DICKINSON E. Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 68: 219-231. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.06.024.
- [8] DE VELDE F V, DE HOOG E H A, OOSTERVELD A, et al. Protein-polysaccharide interactions to alter texture[J]. Annual Review of Food

- Science and Technology, 2015, 6: 371-388. DOI:10.1146/annurev-food-022814-015558.
- [9] MATALANIS A, JONES O G, MCCLEMENTS D J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1865-1880. DOI:10.1016/j.foodhyd.2011.04.014.
- [10] ESQUENA J. Water-in-water (W/W) emulsions[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2016, 25: 109-119. DOI:10.1016/j.cocis.2016.09.010.
- [11] FRITH W J. Mixed biopolymer aqueous solutions-phase behavior and rheology[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2010, 161(1/2): 48-60. DOI:10.1016/j.cis.2009.08.001.
- [12] 陈家凤. 食品级水水乳液的形成及其功能性输送的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020: 5.
- [13] DICKINSON E. Particle-based stabilization of water-in-water emulsions containing mixed biopolymers[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 31-40. DOI:10.1016/j.tifs.2018.11.004.
- [14] 刘石林, 李斌, 李艳, 等. 一种水包水Pickering乳液及其制备方法: 202011066403.8[P]. 2021-01-12[2021-10-08].
- [15] SONG Yang, SHUM H C. Monodisperse W/W/W double emulsion induced by phase separation[J]. Langmuir, 2012, 28(33): 12054-12059. DOI:10.1021/la3026599.
- [16] MOON B U, HWANG D K, TSAI S S H. Shrinking, growing, and bursting: microfluidic equilibrium control of water-in-water droplets[J]. Lab on a Chip, 2016, 16(14): 2601-2608. DOI:10.1039/c6lc00576d.
- [17] MOON B U, ABBASI N, JONES S G, et al. Water-in-water droplets by passive microfluidic flow focusing[J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(7): 3982-3989. DOI:10.1021/acs.analchem.6b00225.
- [18] ZHANG Hong, TUMARKIN E, SULLAN R M A, et al. Exploring microfluidic routes to microgels of biological polymers[J]. Macromolecular Rapid Communications, 2007, 28(5): 527-538. DOI:10.1002/marc.200600776.
- [19] AMICI E, TETRADIS-MERIS G, PULIDO DE TORRES C, et al. Alginate gelation in microfluidic channels[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(1): 97-104. DOI:10.1016/j.foodhyd.2007.01.022.
- [20] NICOLAI T, MURRAY B. Particle stabilized water in water emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 68: 157-163. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.08.036.
- [21] BUZZA D M A, FLETCHER P D I, GEORGIU T K, et al. Water-in-water emulsions based on incompatible polymers and stabilized by triblock copolymers-templated polymersomes[J]. Langmuir, 2013, 29(48): 14804-14814. DOI:10.1021/la403356j.
- [22] POORTINGA A T. Microcapsules from self-assembled colloidal particles using aqueous phase-separated polymer solutions[J]. Langmuir, 2008, 24(5): 1644-1647. DOI:10.1021/la703441e.
- [23] FIROOZMAND H, MURRAY B S, DICKINSON E. Interfacial structuring in a phase-separating mixed biopolymer solution containing colloidal particles[J]. Langmuir, 2009, 25(3): 1300-1305. DOI:10.1021/la8037389.
- [24] BALAKRISHNAN G, NICOLAI T, BENYAHIA L, et al. Particles trapped at the droplet interface in water-in-water emulsions[J]. Langmuir, 2012, 28(14): 5921-5926. DOI:10.1021/la204825f.
- [25] NGUYEN B T, NICOLAI T, BENYAHIA L. Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles[J]. Langmuir, 2013, 29(34): 10658-10664. DOI:10.1021/la402131e.
- [26] MURRAY B S, PHISARNCHANANAN N. The effect of nanoparticles on the phase separation of waxy corn starch + locust bean gum or guar gum[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 42: 92-99. DOI:10.1016/j.foodhyd.2014.01.004.
- [27] FIROOZMAND H, ROUSSEAU D. Tailoring the morphology and rheology of phase-separated biopolymer gels using microbial cells as structure modifiers[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 42: 204-214. DOI:10.1016/j.foodhyd.2014.04.040.
- [28] DEWEY D C, STRULSON C A, CACACE D N, et al. Bioreactor droplets from liposome-stabilized all-aqueous emulsions[J]. Nature Communications, 2014, 5(1): 1-9. DOI:10.1038/ncomms5670.
- [29] NGUYEN B T, WANG Wenkai, SAUNDERS B R, et al. pH-responsive water-in-water Pickering emulsions[J]. Langmuir, 2015, 31(12): 3605-3611. DOI:10.1021/la5049024.
- [30] VIS M, OPDAM J, VAN'T OOR I S J, et al. Water-in-water emulsions stabilized by nanoplates[J]. ACS Macro Letters, 2015, 4(9): 965-968. DOI:10.1021/acsmacrolett.5b00480.
- [31] HANN S D, GOULIAN M, LEE D, et al. Trapping and assembly of living colloids at water-water interfaces[J]. Soft Matter, 2015, 11(9): 1733-1738. DOI:10.1039/c4sm02267j.
- [32] GONZALEZ-JORDAN A, NICOLAI T, BENYAHIA L. Influence of the protein particle morphology and partitioning on the behavior of particle-stabilized water-in-water emulsions[J]. Langmuir, 2016, 32(28): 7189-7197. DOI:10.1021/acs.langmuir.6b01993.
- [33] DE FREITAS R A, NICOLAI T, CHASSENIEUX C, et al. Stabilization of water-in-water emulsions by polysaccharide-coated protein particles[J]. Langmuir, 2016, 32(5): 1227-1232. DOI:10.1021/acs.langmuir.5b03761.
- [34] PEDDIREDDY K R, NICOLAI T, BENYAHIA L, et al. Stabilization of water-in-water emulsions by nanorods[J]. ACS Macro Letters, 2016, 5(3): 283-286. DOI:10.1021/acsmacrolett.5b00953.
- [35] MURRAY B S, PHISARNCHANANAN N. Whey protein microgel particles as stabilizers of waxy corn starch + locust bean gum water-in-water emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56: 161-169. DOI:10.1016/j.foodhyd.2015.11.032.
- [36] XUE Longhui, XIE Chunyan, MENG Shixin, et al. Polymer-protein conjugate particles with biocatalytic activity for stabilization of water-in-water emulsions[J]. ACS Macro Letters, 2017, 6(7): 679-683. DOI:10.1021/acsmacrolett.7b00294.
- [37] CHATSISVILI N, PHILIPSE A P, LOPPINET B, et al. Colloidal zein particles at water-water interfaces[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 65: 17-23. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.10.036.
- [38] DAS A A K, FILBY B W, GEDDES D A, et al. High throughput fabrication of cell spheroids by templating water-in-water Pickering emulsions[J]. Materials Horizons, 2017, 4(6): 1196-1200. DOI:10.1039/c7mh00677b.
- [39] GANLEY W J, RYAN P T, VAN DUJNEVELDT J S. Stabilization of water-in-water emulsions by montmorillonite platelets[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2017, 505: 139-147. DOI:10.1016/j.jcis.2017.05.062.
- [40] INAM M, JONES J R, PÉREZ-MADRIGAL M M, et al. Controlling the size of two-dimensional polymer platelets for water-in-water emulsifiers[J]. ACS Central Science, 2018, 4(1): 63-70. DOI:10.1021/acscentsci.7b00436.
- [41] ABBASI N, NAVI M, TSAI S S H. Microfluidic generation of particle-stabilized water-in-water emulsions[J]. Langmuir, 2018, 34(1): 213-218. DOI:10.1021/acs.langmuir.7b03245.
- [42] AYED E B, COCHEREAU R, DECHANCÉ C, et al. Water-in-water emulsion gels stabilized by cellulose nanocrystals[J]. Langmuir, 2018, 34(23): 6887-6893. DOI:10.1021/acs.langmuir.8b01239.
- [43] DOULIEZ J P, MARTIN N, BENEYTON T, et al. Preparation of swellable hydrogel-containing colloidosomes from aqueous two-phase

- Pickering emulsion droplets[J]. *Angewandte Chemie*, 2018, 130(26): 7906-7910. DOI:10.1002/ange.201802929.
- [44] KHEMISSI H, BASSANI H, ASCHI A, et al. Exploiting complex formation between polysaccharides and protein microgels to influence particle stabilization of W/W emulsions[J]. *Langmuir*, 2018, 34(39): 11806-11813. DOI:10.1021/acs.langmuir.8b02383.
- [45] GONZALEZ-JORDAN A, NICOLAI T, BENYAHIA L. Enhancement of the particle stabilization of water-in-water emulsions by modulating the phase preference of the particles[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2018, 530: 505-510. DOI:10.1016/j.jcis.2018.04.088.
- [46] ZHANG Jianrui, HWANG J, ANTONIETTI M, et al. Water-in-water Pickering emulsion stabilized by polydopamine particles and cross-linking[J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20(1): 204-211. DOI:10.1021/acs.biomac.8b01301.
- [47] TEA L, NICOLAI T, RENOU F. Stabilization of water-in-water emulsions by linear homo-polyelectrolytes[J]. *Langmuir*, 2019, 35(27): 9029-9036. DOI:10.1021/acs.langmuir.9b01604.
- [48] TEA L, NICOLAI T, BENYAHIA L, et al. Viscosity and morphology of water-in-water emulsions: the effect of different biopolymer stabilizers[J]. *Macromolecules*, 2020, 53(10): 3914-3922. DOI:10.1021/acs.macromol.0c00204.
- [49] TEA L, RENOU F, BENYAHIA L, et al. Assessment of the stability of water in water emulsions using analytical centrifugation[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 608: 125619. DOI:10.1016/j.colsurfa.2020.125619.
- [50] ZHANG Jinglin, MEI Lei, MA Peihua, et al. Microgel-stabilized hydroxypropyl methylcellulose and dextran water-in-water emulsion: influence of pH, ionic strength, and temperature[J]. *Langmuir*, 2021, 37(18): 5617-5626. DOI:10.1021/acs.langmuir.1c00484.
- [51] WANG Yitong, YUAN Jin, ZHAO Yunpeng, et al. Water-in-water emulsions, ultralow interfacial tension, and biolubrication[J]. *CCS Chemistry*, 2021, 6: 2275-2287. DOI:10.31635/ccschem.021.202101028.
- [52] MENG Yuwen, NICOLAI T, BENYAHIA L, et al. Utilization of xanthan to stabilize water in water emulsions and modulate their viscosity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 277: 118812. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118812.
- [53] MACHADO J P E, BENYAHIA L, NICOLAI T. Effect of adding a third polysaccharide on the adsorption of protein microgels at the interface of polysaccharide-based water in water emulsions[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 603: 633-640. DOI:10.1016/j.jcis.2021.06.053.
- [54] QIAN Xiaoli, PENG Guangni, GE Lingling, et al. Water-in-water Pickering emulsions stabilized by the starch nanocrystals with various surface modifications[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 607: 1613-1624. DOI:10.1016/j.jcis.2021.09.085.
- [55] 焦博, 石爱民, 刘红芝, 等. 基于食品级固体颗粒稳定的Pickering乳液研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 296-303. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201805044.
- [56] ORTIZ D G, POCHAT-BOHATIER C, CAMBEDOUZOU J, et al. Current trends in Pickering emulsions: particle morphology and applications[J]. *Engineering*, 2020, 6(4): 468-482. DOI:10.1016/J.ENG.2019.08.017.
- [57] YANG Yunqi, FANG Zhiwei, CHEN Xuan, et al. An overview of Pickering emulsions: solid-particle materials, classification, morphology, and applications[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8: 287. DOI:10.3389/fphar.2017.00287.
- [58] PADILHA G S, SANTANA J C C, ALEGRE R M, et al. Extraction of lipase from burkholderia cepacia by PEG/Phosphate ATPS and its biochemical characterization[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2012, 55(1): 7-19. DOI:10.1590/s1516-89132012000100002.
- [59] RATHNASAMY S, KUMARESAN R. Partition coefficient studies in integrated aqueous two phase (ATPi) extraction with free tri-azine dye ligands for papain partitioning from its crude latex[J]. *Research Journal of Biotechnology*, 2014, 9: 866-77.
- [60] CHEN Jiafeng, GUO Jian, LIU Sihong, et al. Zein particle-stabilized water-in-water emulsion as a vehicle for hydrophilic bioactive compound loading of riboflavin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(35): 9926-9933. DOI:10.1021/acs.jafc.9b02415.
- [61] LOMER M C E, PARKES G C, SANDERSON J D. Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2008, 27(2): 93-103. DOI:10.1111/j.1365-2036.2007.03557.x.
- [62] BELDENGRUN Y, ARAGON J, PRAZERES S F, et al. Gelatin-maltodextrin water-in-water (W/W) emulsions for the preparation of crosslinked enzyme-loaded microgels[J]. *Langmuir*, 2018, 34(33): 9731-9743. DOI:10.1021/acs.langmuir.8b01599.