

白、红、黑三色藜麦分离蛋白的 物化性质和功能特性

郭笑含¹, 许 颖², 周福珍³, 王耀松^{1*}

(1. 南京林业大学 森林食物资源挖掘与利用全国重点实验室, 江苏 南京 210037; 2. 浙江清华长三角研究院 食品与农业技术研究所, 浙江 嘉兴 314006; 3. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 以白色藜麦、红色藜麦和黑色藜麦为原料, 经正己烷脱脂、NaOH 碱溶、盐酸酸析出, 分别分离提取了白色藜麦分离蛋白(WQPI)、红色藜麦分离蛋白(RQPI)及黑色藜麦分离蛋白(BQPI)。通过聚丙烯酰胺凝胶电泳、Zeta 电位和粒径测定以及表面疏水性、蛋白溶解性、持水性、持油性、乳化活性、起泡性和凝胶性测试, 考察了 pH (2.0~10.0) 和 NaCl 浓度 (0~0.6 mol/L) 对 WQPI、RQPI 和 BQPI 3 种蛋白的物化性质和功能特性的影响。结果表明, WQPI、RQPI 和 BQPI 3 种蛋白主要组分均为由酸性亚基及碱性亚基通过二硫键交联的 11S 球蛋白和 7S 球蛋白, 但两者含量存在显著差异。3 种蛋白平均粒径及带电性强烈依赖于 pH, 其表面疏水性随着 pH 的升高而显著降低; 远离等电点 (约 5.0) 时的 pH 均能显著提高蛋白的溶解性、乳化性及起泡性, 但降低泡沫稳定性。在中性条件下, WQPI、RQPI 比 BQPI 表现出更好的凝胶性和界面性; NaCl 对蛋白的溶解性、乳化性及起泡性的影响依赖于其浓度; WQPI、RQPI 的凝胶性明显优于 BQPI, 质量浓度为 120 g/L 的 WQPI、RQPI 所形成的凝胶结构完整且有较好的站立性, 而质量浓度为 180 g/L 的 BQPI 才能形成具有站立性的凝胶。

关键词: 藜麦分离蛋白; 离子含量; pH; 物化性质; 功能特性; 食品化学品

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2026) 05-1136-10

Physicochemical characteristics and functional properties of white, red and black quinoa protein isolates

GUO Xiaohan¹, XU Ying², ZHOU Fuzhen³, WANG Yaosong^{1*}

(1. State Key Laboratory for Development and Utilization of Forest Food Resources, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Department of Food and Agricultural Technology, Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, Zhejiang, China; 3. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China)

Abstract: White quinoa protein isolates (WQPI), red quinoa protein isolates (RQPI) and black quinoa protein isolates (BQPI) were isolated and extracted from white, red and black quinoa, respectively, after degreasing with *n*-hexane, alkaline dissolution with NaOH and precipitation with hydrochloric acid. The effects of pH (2.0~10.0) and NaCl concentration (0~0.6 mol/L) on the physicochemical properties and functional characteristics of WQPI, RQPI and BQPI were evaluated through polyacrylamide gel electrophoresis, Zeta potential and particle size determination, as well as surface hydrophobicity, protein solubility, water-holding capacity, oil-holding capacity, emulsifying activity, foaming property and gelation property tests. The results showed that the main components of WQPI, RQPI and BQPI were all 11S globulin and 7S globulin cross-linked *via* acidic subunits and basic subunits through disulfide bonds, but with significant difference in their contents. The average particle size and surface charge of the three proteins were highly dependent on pH, and their surface hydrophobicity significantly decreased as pH

收稿日期: 2025-05-07; 定用日期: 2025-06-06; DOI: 10.13550/j.jxhg.20250321

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31401530)

作者简介: 郭笑含 (2000—), 女, 硕士生, E-mail: guoxiaohan@njfu.edu.cn。联系人: 王耀松 (1981—), 男, 博士, 副教授, E-mail: yaosongwang@njfu.edu.cn。

increased. The pH far from the isoelectric point (about 5.0) could significantly improve the solubility, emulsification and foaming property of the protein, but reduce the stability of the foam. Under neutral conditions, WQPI and RQPI exhibited better gelation and interfacial properties than BQPI. The influence of NaCl on the solubility, emulsification and foaming properties of proteins was correlated to its concentration. The gelation properties of WQPI and RQPI were significantly better than those of BQPI. The gel structures formed by WQPI and RQPI with a mass concentration of 120 g/L were complete and had good standing properties, while only BQPI with a mass concentration of 180 g/L could form a gel with standing properties.

Key words: quinoa protein isolate; ion content; pH; physicochemical characteristics; functional properties; food chemicals

藜麦是一种具有极高营养和功能价值的经济作物^[1], 目前在世界各国均有较大的种植面积和产量^[2]。藜麦籽主要有白色、红色和褐色之分^[3], 与大多数传统谷物相比, 其富含人体必需的氨基酸^[4], 尤其是赖氨酸、色氨酸和半胱氨酸^[5]。藜麦籽蛋白具有高消化率和无麸质的特性, 是面包、饼干和牛奶等无麸质产品的理想成分^[6]。

目前, 藜麦蛋白得益于其在不同体系中所展现出良好的食品功能性^[7], 广泛应用于各类食品体系中^[8]。对植物蛋白资源的挖掘与利用, 契合当前“大食物观”下全民营养健康和可持续发展的战略选择, 可以减少对动物源性蛋白的依赖, 有利于环境保护。XU 等^[9]发现, 藜麦蛋白能形成质量较高的蛋白凝胶, 可作为鸡蛋替代品应用在面包中。藜麦蛋白也具有良好的发泡能力、泡沫稳定性、乳化性能和蛋白质溶解性^[10]。由于藜麦蛋白优异的功能特性, 现已被用于相关食品, 如面包、牛奶和香肠等^[11]。然而, 由于藜麦颜色的多样性, 制备的藜麦蛋白品质不尽相同, 食品加工学性能差异性较大, 人们对不同颜色藜麦分离蛋白之间的差异及其与物化性质、功能特性的关系仍然知之甚少, 这会给加工食品的质量稳定性及品质改良带来不确定性, 也不利于不同蛋白资源价值的进一步提升, 影响优质藜麦高价值产品的开发^[12]。因此, 比较不同颜色藜麦制备的藜麦蛋白功能性差异显得非常必要。

本文拟以最常见的3种不同颜色, 即白色、红色和黑色的藜麦籽为原料, 对其提取的3种蛋白的物化性质(相对分子质量、电荷特性、表面疏水性)和功能特性(溶解性、持水性、持油性、乳化性、起泡性能及胶凝性能)进行比较, 以期对藜麦分离蛋白的深度应用提供理论基础和技术支撑。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

白色藜麦、红色藜麦和黑色藜麦籽购自青海青藜农业开发有限公司。

正己烷, 上海凌峰化学试剂有限公司; NaOH、

十二烷基硫酸钠(SDS)、盐酸(质量分数37%)、牛血清蛋白试剂、NaCl等, 国药集团化学试剂有限公司; 8-苯胺-1-萘磺酸(ANS), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 丙烯酰胺、过硫酸铵、甘油、四甲基乙二胺、*N*-乙基马来酰亚胺(NEM)、 β -巯基乙醇(β -ME), Sigma-Aldrich公司(上海); 实验用水为去离子水, 自制。所用试剂和化学品均为AR。

SpectraMax i3x 型多功能酶标仪, 美谷分子仪器(上海)有限公司; Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 公司; FE28 型 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Bio-Rad Mini-Protein Tetra 型蛋白电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; Scientz-18N 型冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 方法

首先, 将白色藜麦研磨过筛(80目), 过筛后的藜麦粉与正己烷按照固液比(g:mL, 下同)1:4在转速300 r/min下搅拌脱脂2~3次, 每次2h; 然后, 抽滤得到脱脂藜麦粉, 通过旋蒸回收正己烷, 将脱脂藜麦粉置于通风橱中12h, 自然干燥。

参考文献[13]的方法提取蛋白。首先, 取干燥后脱脂藜麦粉与去离子水按照固液比1:8混合后, 用浓度为1 mol/L的NaOH溶液调节pH=10.0, 搅拌30 min后, 于4℃离心(8000×g)10 min, 收集上清液。然后, 用浓度为1 mol/L的盐酸调节收集液pH=4.5, 静置30 min后, 于4℃离心(3500×g)10 min, 收集沉淀蛋白。最后, 沉淀蛋白经两次去离子水洗涤, 并使用浓度为1 mol/L的盐酸调节pH=7.0, 经-45℃冷冻干燥48 h, 得到粉末状白色藜麦分离蛋白(WQPI)。

按照WQPI的制备步骤和方法, 分别以红色藜麦和黑色藜麦为原料, 制得的粉末状产物分别记为红色藜麦分离蛋白(RQPI)和黑色藜麦分离蛋白(BQPI)。参考文献[14]使用双缩脲法测得3种藜麦分离蛋白(QPI)的质量分数均>90%, 于-18℃储存备用。

1.3 结构表征与性能测试

1.3.1 样品溶液配制

将 3 种 QPI 粉末均匀地分散在去离子水中, 得到质量浓度为 10 g/L 的 QPI 分散液, 水化过夜后于 4 °C 储存备用。

将 NaCl 溶解于去离子水中得到 NaCl 储备液, 并将 3 种 QPI 粉末均匀地分散在 NaCl 储备液中, 最终得到 QPI 质量浓度为 10 g/L, NaCl 浓度分别为 0.1、0.3 和 0.6 mol/L 的不同 NaCl 和 QPI 混合液, 于 4 °C 充分水化过夜, 备用。

1.3.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳测试

参考文献[15]的方法, 采用质量浓度 125 g/L 分离胶和 50 g/L 浓缩胶进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 测试。使用磷酸盐缓冲液 (PBS, pH=7.0) 将 3 种质量浓度为 10 g/L 的 QPI 分散液稀释至 2 g/L, 并分别与非还原条件 (质量浓度 0.125 g/L 的 NEM) 的缓冲液和还原条件的缓冲液 (质量浓度 55.5 g/L 的 β -ME) 等体积混合, 煮沸 3 min, 冷却至室温后, 每孔加入 10 μ L 质量浓度为 2 g/L 的 QPI 分散液。然后进行电泳分析。凝胶采用考马斯亮蓝 R250 染色 2 h, 再用脱色液 (甲醇质量分数 5.0%、冰醋酸质量分数 7.5% 的溶液) 进行脱色至条带清晰。

1.3.3 Zeta 电位和粒径测定

参考文献[16]的方法测定 QPI 的 Zeta 电位和粒径。使用浓度为 1 mol/L 的盐酸或 NaOH 溶液, 将 3 种 QPI 分散液调至不同 pH (2.0、4.0、6.0、8.0、10.0), 然后使用对应 pH 的柠檬酸-磷酸盐缓冲液将其稀释至质量浓度为 1 g/L 进行测定。

1.3.4 表面疏水性测定

参考文献[17]的方法, 采用 8-苯胺-1-萘磺酸 (ANS) 法测定样品的表面疏水性。使用对应 pH 的柠檬酸-磷酸盐缓冲液及含不同 NaCl 浓度的缓冲盐溶液将 3 种 QPI 分散液分别稀释至质量浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g/L, 取 2 mL 稀释样品与 20 μ L 的 ANS 混合, 避光反应 15 min。分别在激发波长 365 nm 和发射波长 484 nm 处测定混合后样品的荧光强度。以荧光强度 (y) 和溶液中 QPI 的质量浓度 (x , g/L) 为纵坐标和横坐标绘制拟合曲线, 得到其线性回归方程 ($y=kx+c$) 的斜率 (k) 即为蛋白的表面疏水性指数。

1.3.5 蛋白质溶解度测定

参考文献[14]方法, 测定不同 pH 对蛋白质溶解度的影响。将 3 种 QPI 分散液用浓度为 1 mol/L 的盐酸或 NaOH 溶液调节 pH=2.0~10.0, 室温下用磁力搅拌器搅拌 2 h 后, 于 4 °C 冷藏 12 h, 再经 8000 $\times$ g 离心 10 min。使用双缩脲法测定上清液中蛋白质含量 (g/L)。

参考文献[18]方法, 测定离子含量对蛋白质溶解度的影响。将 NaCl 和 QPI 混合液经 8000 $\times$ g 离心 10 min, 再用双缩脲法测定上清液中蛋白质含量 (g/L)。

根据式 (1) 计算蛋白质溶解度 (%)。

$$\text{蛋白质溶解度}/\% = \frac{\text{上清液中蛋白质质量}}{\text{总蛋白质质量}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.6 持水性测定

参考文献[19]方法测定样品的持水性, 并略作修改。将 1 g QPI 与 25 mL 去离子水混合均匀后, 倒入在离心管中涡旋 2 min, 常温静置 1 h 后, 将分散液在 13000 $\times$ g 下离心 20 min, 弃上清液, 以 45° 角引流 10 min, 记录沉淀物与离心管的质量。根据式 (2) 计算持水性 (WHC, g/g)。

$$\text{WHC} = (m_2 - m_1) / m_0 \quad (2)$$

式中: m_2 为吸水后离心管和沉淀蛋白的总质量, g; m_1 为离心管和蛋白样品的总质量, g; m_0 为藜麦分离蛋白的质量, g。

1.3.7 持油性测定

参考文献[19]方法测定样品的持油性。将 1 g QPI 与 15 mL 大豆油混合均匀后, 倒入离心管中涡旋 2 min, 常温静置 1 h 后, 将分散液在 6000 $\times$ g 下离心 20 min, 弃上清液, 记录沉淀物与离心管的质量。根据式 (3) 计算持油性 (OAC, g/g)。

$$\text{OAC} = (m'_2 - m'_1) / m'_0 \quad (3)$$

式中: m'_2 为吸油后离心管和沉淀蛋白的总质量, g; m'_1 为离心管和蛋白样品的总质量, g; m'_0 为藜麦分离蛋白的质量, g。

1.3.8 乳化活性指数测定

参考文献[20]方法测定样品的乳化活性指数, 并稍作修改。使用浓度为 1 mol/L 的盐酸或 NaOH 溶液, 将 3 种质量浓度为 20 g/L 的 QPI 分散液调至指定 pH (分别为 2.0、4.0、7.0、10.0), 并将 NaCl 和 QPI 混合液调整 pH=7.0。取 15 mL 样品溶液移入均质管, 加入 5 mL 大豆油, 使用高速均质机以 13500 r/min 充分混合均质 3 次, 每次 40 s, 两次间隔 5 s。取 25 μ L 乳状液转移至含有 5 mL (质量浓度 1 g/L) SDS 的管中充分涡旋, 使用酶标仪测定稀释后乳状液在 500 nm 处的吸光度 (A_0) 和 30 min 后的吸光度 (A_{30})。根据式 (4) 计算乳化活性指数 (EAI, m^2/g), 根据式 (5) 计算乳液稳定性指数 (ESI, %)。

$$\text{EAI} = \frac{4.606 \times A_0}{\rho \times (1 - \phi) \times 10^4} \times \text{稀释倍数} \quad (4)$$

式中: ρ 为乳化前样品质量浓度, 10 g/L; ϕ 为油的体积分数, 为 25%。

$$\text{ESI}/\% = A_{30}/A_0 \times 100 \quad (5)$$

1.3.9 起泡性能测定

参考文献[21]方法测定样品的起泡性能。取 25 mL 质量浓度为 10 g/L 的 QPI 分散液, 用浓度为 1 mol/L 的盐酸或 NaOH 溶液, 将其调至指定 pH (分别为 2.0、4.0、7.0、10.0)。将 NaCl 和 QPI 混合液调整 pH=7.0, 然后装入 100 mL 塑料试管内, 充分均质 2 min, 分别在 0 和 30 min 记录泡沫的体积。根据式 (6) 和 (7) 计算样品的起泡性 (FC, %) 和泡沫稳定性 (FS, %)。

$$FC/\% = V_0/V \times 100 \quad (6)$$

$$FS/\% = V_1/V_0 \times 100 \quad (7)$$

式中: V_0 、 V_1 分别为 0、30 min 时的泡沫体积, mL; V 初始溶液体积, mL。

1.3.10 临界凝胶浓度测定

参考文献[22]方法测定样品的临界凝胶浓度 (LGC)。将 QPI 粉末分散在 5 mL 去离子水中得到不同质量浓度 (60~180 g/L) 的分散液, 用浓度为 1 mol/L 的盐酸将 pH 调至 7.0, 充分溶解后水合 12 h, 转移到塑料离心管中, 充分旋涡 5 min, 并置于 90 °C 水浴中 30 min, 取出试管冷却至室温, 置于冰箱 4 °C 保存 12 h。倒置试管时, 记录样品未掉落或滑动的蛋白质质量浓度。

1.4 数据处理

所有实验重复测定 3 次, 用最小显著性差异法 (LSD) 进行显著性分析, 显著性水平为 $\alpha=0.05$ 。使用 Statistix 9 软件, 通过方差分析 (ANOVA) 对实验数据进行统计与分析。

2 结果与讨论

2.1 QPI 组分分析

图 1 为 WQPI、RQPI 和 BQPI 在非还原条件下和还原条件下的 SDS-PAGE 图。

从图 1A 可以看出, WQPI、RQPI 和 BQPI 在非还原条件下, 有较多相对分子质量 (M_w) 大的蛋白质聚集在凝胶顶部, BQPI 表现得最为明显。在分离胶中, 每种蛋白有明显的条带对应的组分, 分别为 11S 球蛋白、7S 球蛋白、11S 酸性亚基 (11S A) 和 2S 清蛋白, 对应的相对分子质量分别为 61.3、52.4、33.8~41.9 和 11.8 kDa, 与前人报道基本一致^[23]。WQPI 和 RQPI 的 7S 球蛋白含量不及 BQPI 丰富, 但 WQPI 中的 2S 清蛋白含量相对较多, 而 RQPI 中的 7S 球蛋白、2S 清蛋白含量均比另外两种蛋白低。

从图 1B 可以看出, 在加入还原剂 β -ME 后的还原胶中, WQPI、RQPI 和 BQPI 大量聚集在浓缩胶内和分离胶上端的蛋白聚集体的条带强度显著降低, 7S 球蛋白亦有较大程度的减少。对应地, 11S A

及 11S 球蛋白碱性亚基 (11S B, 相对分子质量为 22.2 kDa) 明显增多。此外, RQPI 的 2S 清蛋白有所增加, 而 WQPI、BQPI 对应的 2S 组分无显著变化。结果表明, WQPI、RQPI 和 BQPI 中, 11S (由酸性亚基 11S A 与碱性亚基 11S B 通过二硫键交联构成) 是主要蛋白组分; 7S 球蛋白也是蛋白的构成部分且有部分二硫键, 但其含量较低; 2S 清蛋白含量最低, 这可能与提取方法有关。GITERU 等^[24]也发现, 在藜麦浓缩/分离蛋白各类组分中, 11S A 及 11S B 含量丰富, 而 7S 球蛋白及 2S 清蛋白较少。尽管 WQPI、RQPI 和 BQPI 3 种蛋白组分种类相似, 但二硫键含量及二硫键交联方式存在较大的差异。

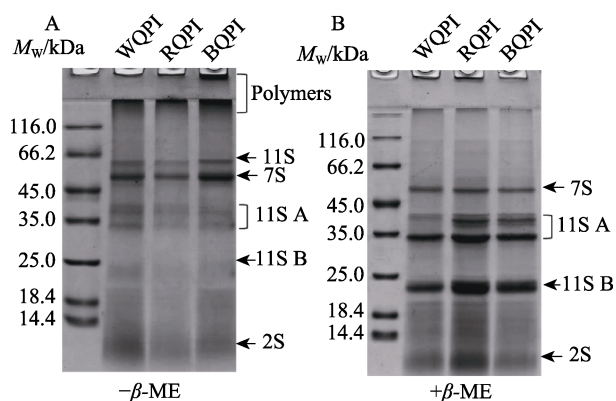


图 1 WQPI、RQPI 和 BQPI 在非还原 (A) 和还原 (B) 条件下的 SDS-PAGE 图

Fig. 1 SDS-PAGE patterns of WQPI, RQPI and BQPI under non-reducing (A) or reducing (B) conditions

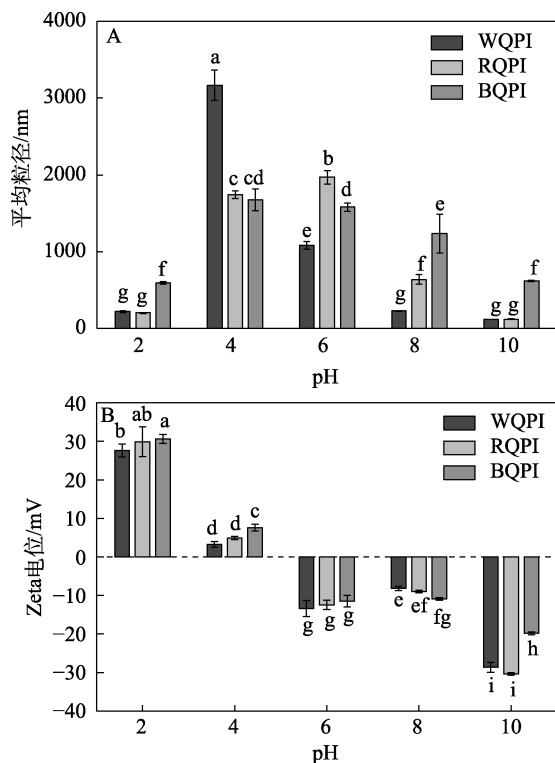
2.2 pH 对蛋白粒径和 Zeta 电位的影响

蛋白质的分子粒径及其他因素 (蛋白质结构、形状、电荷、疏水性、游离巯基含量和氨基酸组成) 决定了蛋白的聚集性, 从而影响其溶解性^[25]。图 2 为 pH=2.0~10.0 时, WQPI、RQPI 和 BQPI 在分散体系中的平均粒径和 Zeta 电位。

从图 2A 可以看出, WQPI 和 BQPI 的平均粒径在 pH≈4.0 时达到最大, 这可能是因为, 此 pH 下, 蛋白靠近等电点, 此时蛋白几乎不带电, 分子间静电排斥最小, 从而形成大粒径聚集体; 而 RQPI 在 pH≈6.0 时平均粒径出现最大值。

测定蛋白在不同 pH 下的 Zeta 电位, 也反映蛋白的物化特性, 为其应用提供参考。从图 2B 可以看出, 在 pH=2.0 时, WQPI、RQPI 和 BQPI 均显示出最大正电荷, Zeta 电位约为 30 mV。随着 pH 的增加, Zeta 电位下降; 当 pH 接近 5.0 时, 3 种蛋白几乎不带电。当 pH 继续升高, 蛋白带负电量且电量增加。

从图 2 综合可以看出, Zeta 电位的大小很大程度上决定了蛋白粒径大小, 即蛋白带电量越大, 其粒径越小。基本可以确定, 这 3 种蛋白的等电点均约为 5.0, 与 YANG 等^[26]的报道基本一致。



柱状图上不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$), 下同
图 2 pH 对 WQPI、RQPI 和 BQPI 的平均粒径 (A) 和 Zeta 电位 (B) 的影响

Fig. 2 Effect of pH on average particle size (A) and Zeta potential (B) of WQPI, RQPI and BQPI

2.3 pH 和离子含量对蛋白表面疏水性的影响

表面疏水性体现蛋白质构象和柔韧性, 取决于分子大小和形状、交联程度以及氨基酸的组成和残基序列^[27]。pH 和 NaCl 溶液浓度对 WQPI、RQPI 和 BQPI 表面疏水性的影响见图 3。

从图 3A 可以看出, WQPI、RQPI 和 BQPI 的表面疏水性均随着 pH (2.0~10.0) 的增加而呈现下降趋势 (图 3A)。这是因为, 在 pH=2.0 的酸性条件下, 蛋白质整体带正电荷。电荷之间的排斥力会导致蛋白质结构展开, 内部的疏水区域暴露到表面, 因此表面疏水性较高。而当 pH 接近蛋白质的等电点时, 蛋白质的净电荷较低, 分子间排斥力减弱, 疏水区域被包裹, 导致表面疏水性降低^[28]。而在 pH>等电点的条件下, 负电荷吸引水分子在表面形成水合层, 掩盖了疏水区域, 导致表面疏水性进一步下降。比较而言, 相同 pH 环境下, 表面疏水性高低排序为 BQPI>WQPI>RQPI。

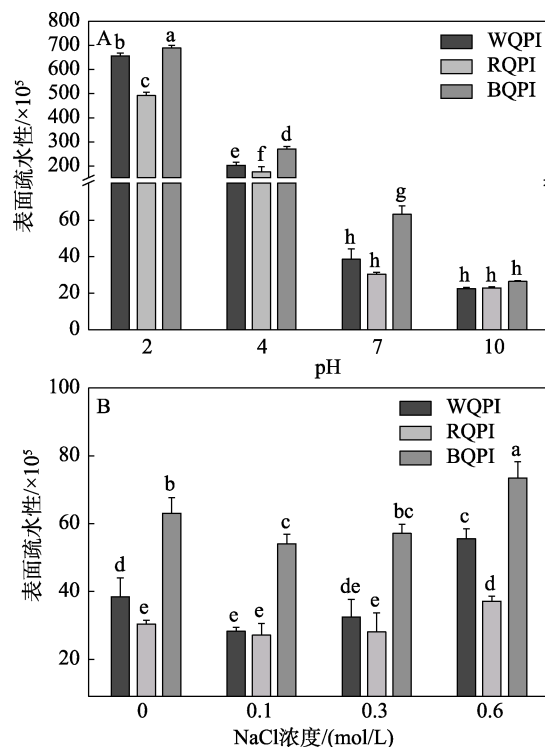


图 3 pH (A) 和 NaCl 浓度 (B) 对 WQPI、RQPI 和 BQPI 表面疏水性的影响

Fig. 3 Effects of pH (A) and NaCl concentration (B) on hydrophobicity of WQPI, RQPI and BQPI

从图 3B 可以看出, 随着 NaCl 溶液浓度 (0~0.6 mol/L) 的升高, WQPI、RQPI 和 BQPI 的表面疏水性均呈现先下降后升高的趋势, 当 NaCl 浓度为 0.1 mol/L 时, 3 种蛋白表面疏水性均达到最低值, 这与 ZHANG 等^[29]的研究结果一致。这是因为, 低浓度 NaCl 溶液有盐溶效应, 能促进蛋白亲水性, 降低蛋白表面疏水性; 而高浓度 NaCl 溶液则可能有盐析效应, 提高了蛋白表面疏水性。比较来看, NaCl 浓度变化对 RQPI 的表面疏水性影响较小。

2.4 pH 和离子含量对蛋白溶解度的影响

真实食品体系通常涉及 pH 及盐离子浓度等加工因素^[30]。图 4 为 pH 和 NaCl 溶液浓度对 WQPI、RQPI 和 BQPI 溶解度的影响。

从图 4A 可以看出, 随着 pH (2.0~10.0) 的增加, WQPI、RQPI 和 BQPI 的溶解度均呈现先降低后升高的趋势, 当 pH=5.0 时, 3 种蛋白的溶解度均最低。在相同 pH 条件下, 3 种蛋白溶解度存在明显差异。这可能是因为, 3 种蛋白的相对分子质量组成比例、氨基酸组成^[31]、酚类物质及皂苷含量不同等多种因素共同影响了藜麦分离蛋白质的表面特性^[32], 导致 3 种蛋白溶解度存在差异^[33]。

从图 4B 可以看出, pH=7.0 时, 随着 NaCl 溶液浓度的升高, 3 种蛋白的溶解度均呈现下降趋势, 这可能是由于藜麦蛋白不同组分的盐溶、盐析效应的综合结果^[34]。

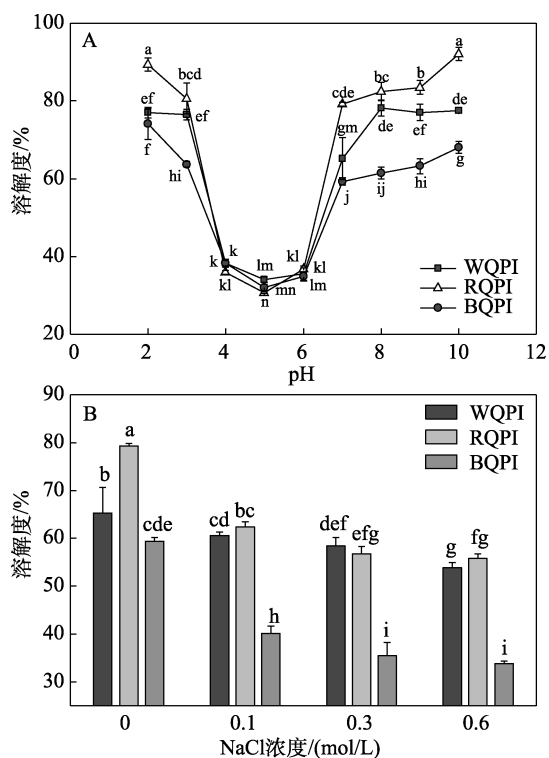


图4 pH(A)和NaCl浓度(B)对WQPI、RQPI和BQPI溶解度的影响

Fig. 4 Effects of pH (A) and NaCl concentration (B) on solubility of WQPI, RQPI and BQPI

综上所述, pH 的调节可显著提高蛋白的溶解度, 而 NaCl 的掺入则降低了这 3 种蛋白的溶解度。

2.5 蛋白的持水性和持油性分析

持水能力是指蛋白质基质在重力影响下所展现的吸收和保留水分的能力, 反映了蛋白质与水之间的复杂相互作用^[35], 是食品加工学性能的重要指标。具有较好的持水能力的蛋白质能够在汤和肉汁等黏性食品体系中发挥重要作用, 有效调节食品的黏稠度和口感^[36]。表 1 为 WQPI、RQPI 和 BQPI 的持水性和持油性。

表 1 WQPI、RQPI 和 BQPI 的持水性和持油性
Table 1 Water-holding capacity and oil-holding capacity of WQPI, RQPI and BQPI

功能属性	WQPI	RQPI	BQPI
持水性/(g/g)	0.05 ± 0.01 ^c	0.59 ± 0.02 ^b	1.67 ± 0.04 ^a
持油性/(g/g)	2.24 ± 0.02 ^c	3.87 ± 0.06 ^a	2.80 ± 0.10 ^b

注: 上标不同小写字母表示数据间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

从表 1 可以看出, WQPI、RQPI 和 BQPI 的持水性均低于大豆分离蛋白 (4.36 g/g)^[37], 比较而言, WQPI 持水性较低, 为 (0.05 ± 0.01) g/g, BQPI 的持水性最高, 为 (1.67 ± 0.04) g/g。3 种蛋白的持水性存在显著差异。

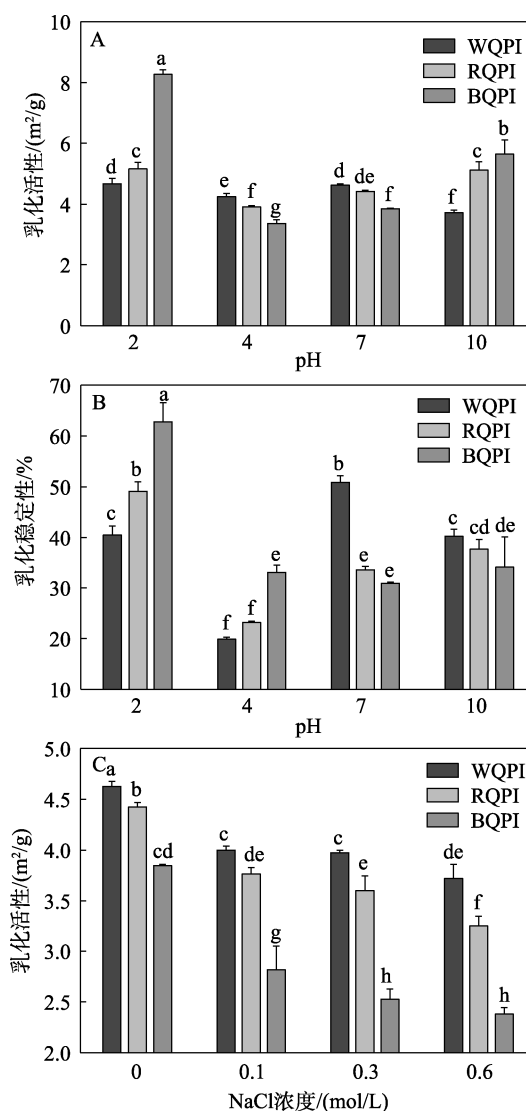
持油性是蛋白质的另一个重要的功能性。在肉类替代品和填充剂等应用中, 蛋白质的持油性不仅

能够提升食品的口感, 还能增强食品的风味^[38]。从表 1 可以看出, RQPI 的持油性最高, 为 (3.87 ± 0.06) g/g, 明显优于大豆蛋白 (2.43 g/g) 和核桃蛋白 (2.81 g/g)^[39], 显示出高油吸附潜力; BQPI 的持油性 [(2.80 ± 0.10) g/g] 与核桃蛋白相近, 高于大豆蛋白; WQPI 的持油性为 (2.24 ± 0.02) g/g, 略低于大豆蛋白和核桃蛋白。

对同一蛋白的持水性和持油性比较来看, 两性能的大小并不是负相关的。表明蛋白的氨基酸组成 (即亲疏水性能的差异) 并不是决定蛋白因亲水而持水性提升或疏水而持油性提升的唯一因素, 其中蛋白的微观结构也是以上性能的必要结构基础。蛋白电泳 (图 1)、平均粒径、Zeta 电位 (图 2)、溶解度 (图 4) 结果也佐证了此结果。

2.6 pH 和离子含量对蛋白乳化性能的影响

乳化性是食品蛋白的一个重要功能性质, 也是食品蛋白作为原料出口的一个参考^[40]。图 5 为 pH 和 NaCl 溶液浓度对 WQPI、RQPI 和 BQPI 乳化性的影响。



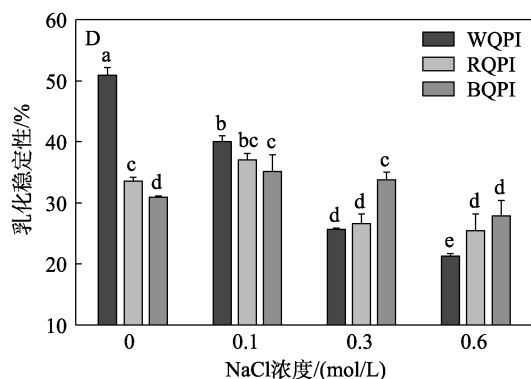


图 5 pH (A、B) 和 NaCl 浓度 (C、D) 对 WQPI、RQPI 和 BQPI 乳化性的影响

Fig. 5 Effects of pH (A, B) and NaCl concentration (C, D) on emulsifying properties of WQPI, RQPI and BQPI

从图 5 可以看出, 在远离等电点的 pH 区域, WQPI、RQPI 和 BQPI 的乳化活性 (图 5A) 及乳化稳定性 (图 5B) 均较高。pH=2.0 或 10.0 时, WQPI 的乳化活性低于 RQPI 和 BQPI; pH=4.0 或 7.0 时, BQPI 的乳化活性最低 (图 5A)。相应地, pH=2.0 时 3 种蛋白表现出最高的乳化稳定性; pH=10.0 时, 乳化稳定性降低; pH=4.0 时, 乳化稳定性最差, 特别是 WQPI, 其乳化稳定性 (19.9%) 最低。

从图 5C 还可以看出, 在 pH=7.0 时, NaCl 的加入降低了 3 种蛋白的乳化活性。WQPI 的乳化活性受到的影响较小, NaCl 浓度为 0.1 mol/L 时提高了 RQPI、BQPI 的乳化稳定性。NaCl 溶液浓度差异对 3 种蛋白乳化活性影响程度均较小, 但中高 NaCl 浓度溶液时显著降低 WQPI 的乳化稳定性。此外, 在相同 NaCl 溶液浓度下, WQPI 表现出最高的乳化活性 (图 5C), BQPI 乳化活性最低, RQPI 的乳化活性及乳化稳定性 (图 5D) 相对居中。这是因为, 对于不同蛋白, NaCl 的盐溶、盐析效应的蛋白临界浓度不尽相同, 通过改变蛋白两性平衡可以改变蛋白的界面性能, 影响乳滴的大小和乳液的黏度, 进而影响乳液稳定性^[41]。NaCl 的加入能够提升蛋白疏水性、降低蛋白溶解性, 这可能是盐析效应的结果, 从而降低了蛋白的乳化性能及乳液稳定性^[42]。

2.7 pH 和离子含量对蛋白起泡性能的影响

起泡性是蛋白界面性的另一个功能特性, 在泡沫体系食品中发挥重要作用^[43]。图 6 为 pH 和 NaCl 溶液浓度对 WQPI、RQPI 和 BQPI 起泡性的影响。

从图 6 可以看出, 在较为极端酸性 (pH=2.0) 或碱性 (pH=10.0) 的条件下, WQPI、RQPI 和 BQPI 的起泡性能均较高 (RQPI 在 pH=2.0 除外), 随着 pH 靠近蛋白等电点, 3 种蛋白的起泡性显著下降

(图 6A) 这一现象与溶解度变化趋势类似 (图 4A)。在测试 pH (2.0~10.0) 范围内, 3 种蛋白总体上的泡沫稳定性比在两端 pH (2.0 或 10.0) 条件时要明显高。在 pH=2.0 时 BQPI 的泡沫稳定性以及 pH=10.0 时 WQPI 的泡沫稳定性均差于其他 pH 或蛋白种类条件 (图 6B)。

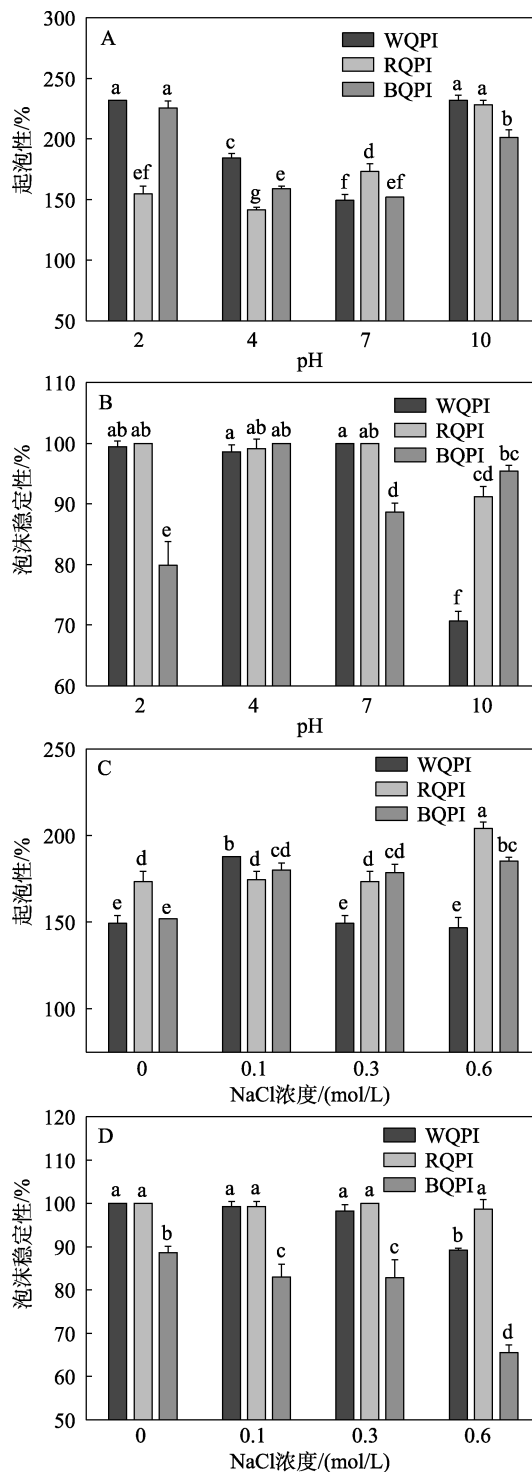


图 6 pH (A、B) 和 NaCl 浓度 (C、D) 对 WQPI、RQPI 和 BQPI 起泡性的影响

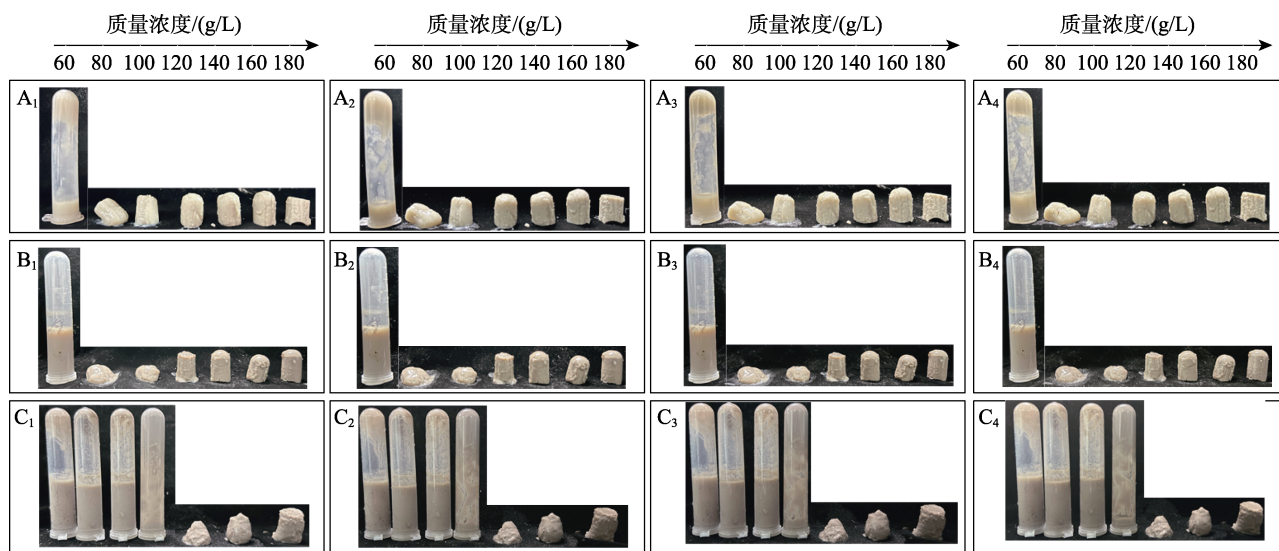
Fig. 6 Effects of pH (A, B) and NaCl concentration (C, D) on foaming properties of WQPI, RQPI and BQPI

从图6还可以看出,不同浓度NaCl溶液总体上均能提高RQPI、BQPI的起泡性,浓度 <0.3 mol/L的NaCl溶液可以显著提升WQPI的起泡性(图6C);较高浓度NaCl溶液对WQPI的起泡性影响不显著。NaCl的添加能维系WQPI的泡沫稳定性,对RQPI的泡沫稳定性无显著性影响(图6D),这与持水性的结果相对应(表1);而NaCl的添加会明显降低

BQPI的泡沫稳定性,浓度越高,降低越明显。

2.8 临界凝胶质量浓度测定结果

凝胶性是蛋白的一个重要食品加工功能特性,也是蛋白作为食品原料或配料助力食品品质的重要体现,可以维系或提升食品的感官品质和营养性^[44]。图7为不同质量浓度WQPI、RQPI和BQPI所成凝胶在室温下静置不同时间后的照片。



A₁~C₁—0 min; A₂~C₂—5 min; A₃~C₃—10 min; A₄~C₄—15 min

图7 不同质量浓度WQPI(A₁~A₄)、RQPI(B₁~B₄)和BQPI(C₁~C₄)所成凝胶在室温下静置不同时间后的形貌
Fig. 7 Morphology of WQPI (A₁~A₄), RQPI (B₁~B₄) and BQPI (C₁~C₄) gels forming with different protein mass concentrations for standing duration at ambient temperature

从图7可以看出,WQPI和RQPI的凝胶性能较为相似,当其质量浓度为60 g/L时,两者均不能成胶;当其质量浓度提升到80~100 g/L时,两者能形成较柔软的胶体,但胶体站立性差;当质量浓度继续提升至120 g/L时,WQPI、RQPI所形成的凝胶结构完整且有较好的站立性。而BQPI的凝胶性弱于WQPI和RQPI,当其质量浓度为140 g/L时,才能形成站立性差的凝胶;当其质量浓度升到180 g/L时,才能形成具有站立性的凝胶,这可能是由其较高的疏水性所致。

从图7还可以看出,在站立15 min时,WQPI形成的凝胶无明显的结构坍塌和失水;RQPI形成的凝胶也无结构坍塌,但有轻微的失水;质量浓度为140~160 g/L的BQPI形成的凝胶则有轻微的结构坍塌和失水。大部分植物蛋白的临界凝胶质量浓度为100~180 g/L^[37]。结果表明,WQPI具有较好的凝胶性,而RQPI和BQPI凝胶性与其他植物蛋白相当,可能需要进一步改性来提高其凝胶性。

3 结论

本文对白色、红色和黑色的藜麦籽提取的3种

蛋白(WQPI、RQPI和BQPI)的物化性质和功能特性进行了比较,结论如下:

(1) 3种蛋白组分主要由11S球蛋白的酸性亚基和碱性亚基通过二硫键交联,大多以非还原的形式存在;含有少量的7S球蛋白及极少量的2S清蛋白。但3种蛋白组分含量差异较大,其物化性质和功能特性取决于所在环境的pH及离子含量。

(2) 在远离等电点的pH条件下,WQPI、RQPI和BQPI 3种蛋白均带有较多的电荷,平均粒径变小,其溶解度则显著增加;pH的升高可显著降低3种蛋白的表面疏水性。

(3) NaCl对3种蛋白的溶解度有显著降低作用,其加入可以提高RQPI、BQPI的乳化稳定性,显著降低WQPI的乳化稳定性。浓度 <0.3 mol/L的NaCl溶液可以显著提升WQPI的起泡性;不同浓度的NaCl溶液均可提升WQPI、RQPI和BQPI 3种蛋白的起泡性,也维系WQPI、RQPI的泡沫稳定性,但显著降低BQPI泡沫的稳定性。

(4) WQPI和RQPI有较好的凝胶性能,而BQPI凝胶性能相对较差;3种蛋白持水性差异较大,BQPI显著高于其他两种蛋白,其中WQPI持水性最低;

RQPI 持油性最高, WQPI、BQPI 持油性相当。

(5) WQPI、RQPI 和 BQPI 3 种蛋白在物化性质及功能特性方面存在较大的差别, 综合蛋白品质优良性高低顺序为 WQPI>RQPI>BQPI。通过调节 pH 及盐离子含量可实现蛋白功能性的有效提升, 也表明实际加工体系中的 pH 及离子等因素可能会影响这些蛋白的功能特性。

参考文献:

- [1] MU H Y, XUE S, SUN Q R, *et al.* Research progress of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.): Nutritional components, technological treatment, and application[J]. *Foods*, 2023, 12(10): 2087.
- [2] TAAIME N, EI MEJAHED K, CHOUKR-ALLAH R, *et al.* Optimization of macronutrients for improved grain yield of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) crop under semi-arid conditions of Morocco[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1146658.
- [3] PIÑUEL L, BOERI P, ZUBILLAGA F, *et al.* Production of white, red and black quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd. Var. Real) protein isolates and its hydrolysates in germinated and non-germinated quinoa samples and antioxidant activity evaluation[J]. *Plants*, 2019, 8(8): 257.
- [4] SEZGIN A C, SANLIER N. A new generation plant for the conventional cuisine: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 86: 51-58.
- [5] LORUSSO A, VERNI M, MONTEMURRO M, *et al.* Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features[J]. *LWT*, 2017, 78: 215-221.
- [6] GRAF B L, ROJAS-SILVA P, ROJO L E, *et al.* Innovations in health value and functional food development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015, 14(4): 431-445.
- [7] DAKHILI S, ABDOLALIZADEH L, HOSSEINI S M, *et al.* Quinoa protein: Composition, structure and functional properties[J]. *Food Chemistry*, 2019, 299: 125161.
- [8] CUI H, LI S Q, ROY D, *et al.* Modifying quinoa protein for enhanced functional properties and digestibility: A review[J]. *Current Research in Food Science*, 2023, 7: 100604.
- [9] XU Q Q, ZHANG X X, ZUO Z Y, *et al.* The preparation and characterization of quinoa protein gels and application in eggless bread[J]. *Foods*, 2024, 13(8): 1271.
- [10] GHUMMAN A, MUDGAL S, SINGH N, *et al.* Physicochemical, functional and structural characteristics of grains, flour and protein isolates of Indian quinoa lines[J]. *Food Research International*, 2021, 140: 109982.
- [11] LI Z R, LI X P, ZHANG X Y, *et al.* Effect of starch on the solubility of quinoa protein isolates during heat treatment[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(50): 20285-20294.
- [12] VILCACUNDO R, HERNANDEZ-LEDESMA B. Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2017, 14: 1-6.
- [13] RUIZ G A, XIAO W, VAN BOEKEL M, *et al.* Effect of extraction pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Food Chemistry*, 2016, 209: 203-210.
- [14] XIN M Y (辛孟瑶), WU J (伍娟), CHEN L H (陈力宏), *et al.* Preparation and characteristics of potato protein and whey protein composite emulsion gels[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2024, 41(11): 2504-2512, 2530.
- [15] ZHANG W W (张唯唯), HE Z D (何振东), MA T Y (马天怡), *et al.* Extreme acid and alkaline pH-shifting processes improving the solubility and emulsifying properties of Ginkgo seed protein isolate[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(6): 1204-1211.
- [16] CHENG Q, LIU C Q, ZHAO J, *et al.* Hyaluronic acid promotes heat-induced gelation of ginkgo seed proteins[J]. *Food Chemistry*, 2025, 463: 141114.
- [17] QIN J W (秦佳伟), CHENG Q (程巧), WANG Y S (王耀松), *et al.* Ginkgo seed isolate protein-pullulan conjugate gels with tunable textural properties[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2024, 42(2): 378-387.
- [18] WANG Y S, MA T Y, LIU C Q, *et al.* L-Histidine improves solubility and emulsifying properties of soy proteins under various ionic strengths[J]. *LWT*, 2021, 152: 112382.
- [19] LAWAL O S, ADEBOWALE K O. Effect of acetylation and succinylation on solubility profile, water absorption capacity, oil absorption capacity and emulsifying properties of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrate[J]. *Food/Nahrung*, 2004, 48(2): 129-136.
- [20] MA T Y (马天怡), GUO F X (郭凤仙), HE Z D (何振东), *et al.* L-arginine/L-lysine ameliorating the emulsifying properties of soy protein isolate[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(1): 150-157, 163.
- [21] ZHANG S Y, SUN Y X, XIE Q G, *et al.* Effect of different salts on foaming properties of model protein system for infant formula[J]. *Journal of Dairy Science*, 2024, 107(5): 2668-2680.
- [22] DENG Y J, HUANG L X, ZHANG C H, *et al.* Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2019, 283: 539-548.
- [23] VILCACUNDO R, BARRIO D, CARPIO C, *et al.* Digestibility of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein concentrate and its potential to inhibit lipid peroxidation in the zebrafish larvae model[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2017, 72: 294-300.
- [24] GITERU S G, LOVEDAY S M, GATHERCOLE J, *et al.* Influence of extraction method on inherent properties and techno-functional behavior of quinoa protein ingredients[J]. *Sustainable Food Proteins*, 2023, 1(4): 135-148.
- [25] MORALES R, MARTÍNEZ K D, RUIZ-HENESTROSA V M P, *et al.* Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: Particle size effect[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015, 26: 48-55.
- [26] YANG Z, CHENG L R. Impact of ultrasound emulsification on the physicochemical properties of emulsions stabilised by quinoa protein isolates at different pHs[J]. *Food Biophysics*, 2024, 19(1): 160-171.
- [27] LI H, WANG T, SU C X, *et al.* Effect of ionic strength on the sequential adsorption of whey proteins and low methoxy pectin on a hydrophobic surface: A QCM-D study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107074.
- [28] CHENG Q, LIU C Q, ZHAO J, *et al.* Hyaluronic acid modulates techno-functional and digestion properties of heat-induced ginkgo seed protein isolate gel[J]. *Food Bioscience*, 2024, 59(4): 104204.
- [29] ZHANG T, JIANG B, MU W M, *et al.* Emulsifying properties of chickpea protein isolates: Influence of pH and NaCl[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(1): 146-152.
- [30] LI R, XIONG Y L. Sensitivity of oat protein solubility to changing ionic strength and pH[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(1): 78-85.
- [31] ALSALEEM K A, MOFTAH R F, EL-GEDDAWY M M A. New insights into red and white quinoa protein isolates: Nutritional, functional, thermal properties[J]. *Processes*, 2024, 12(12): 2822.
- [32] MANZANILLA-VALDEZ M L, BOESCH C, ORFILA C, *et al.* Unveiling the nutritional spectrum: A comprehensive analysis of protein quality and antinutritional factors in three varieties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Food Chemistry-X*, 2024, 24: 101814.
- [33] SANCHEZ-RESENDIZ A I, ESCALANTE-ABURTO A, ANDIA-AYME V, *et al.* Structural properties, functional evaluation, and in

- in vitro* protein digestibility of black and yellow quinoa (*Chenopodium petiolare*) protein isolates[J]. *CyTA-Journal of Food*, 2019, 17(1): 864-872.
- [34] JIANG Y L, ZHU Y F, ZHENG Y R, *et al.* Effects of salting-in/out-assisted extractions on structural, physicochemical and functional properties of *Tenebrio molitor* larvae protein isolates[J]. *Food Chemistry*, 2021, 338: 128158.
- [35] TRAYNHAM T L, MYERS D J, CARRIQUIRY A L, *et al.* Evaluation of water-holding capacity for wheat-soy flour blends[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2007, 84(2): 151-155.
- [36] MA K K, GREIS M, LU J, *et al.* Functional performance of plant proteins[J]. *Foods*, 2022, 11(4): 594.
- [37] JEONG M S, CHO S J. Effect of pH-shifting on the water holding capacity and gelation properties of mung bean protein isolate[J]. *Food Research International*, 2024, 177: 113912.
- [38] ALETOR O, OSHODI A A, IPINMOROTI K. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates[J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(1): 63-68.
- [39] TANG C H, TEN Z, WANG X S, *et al.* Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(23): 8945-8950.
- [40] KIM W, YIU C C Y, WANG Y, *et al.* Toward diverse plant proteins for food innovation[J]. *Advanced Science*, 2024, 11(38): 2408150.
- [41] SHAFIEI M, KAZEMZADEH Y, SHIRAZY G M, *et al.* Evaluating the role of salts on emulsion properties during water-based enhanced oil recovery: Ion type, concentration, and water content[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2022, 364: 120028.
- [42] SHAMS S M, KAZEMZADEH Y, RIAZI M, *et al.* Effect of pressure on the optimal salinity point of the aqueous phase in emulsion formation[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2022, 362: 119783.
- [43] NARSIMHAN G, XIANG N. Role of proteins on formation, drainage, and stability of liquid food foams[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2018, 9(1): 45-63.
- [44] TAN M, NAWAZ M A, BUCKOW R. Functional and food application of plant proteins-A review[J]. *Food Reviews International*, 2023, 39(5): 2428-2456.

(上接第 1056 页)

- [8] LU B H, XIE L J, LEI H, *et al.* Research progress in self-powered pressure sensors for internet of healthcare[J]. *Advanced Materials Technologies*, 2024, 9(21): 2301480.
- [9] ZONG Y (宗延), ZHANG R (张润), WANG R Q (王瑞琦), *et al.* Research progress of natural polymer based piezoelectric composites [J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology (陕西科技大学学报)*, 2023, 41(5): 128-138.
- [10] CHENG T H, SHAO J J, WANG Z L. Triboelectric nanogenerators[J]. *Nature Reviews Methods Primers*, 2023, 3(1): 39.
- [11] YIN J Y, JIA P X, REN Z Q, *et al.* Recent advances in self-powered sensors based on ionic hydrogels[J]. *Research*, 2025, 8: 0571.
- [12] CHEN K Q, HO D. Piezoionics: Mechanical-to-ionic transduction for sensing, biointerface, and energy harvesting[J]. *Aggregate*, 2024, 5(1): e425.
- [13] DOBASHI Y, YAO D, PETEL Y, *et al.* Piezoionic mechanoreceptors: Force-induced current generation in hydrogels[J]. *Science*, 2022, 376(6592): 502-507.
- [14] ZHAO Z, HU Y P, LIU K Y, *et al.* Recent development of self-powered tactile sensors based on ionic hydrogels[J]. *Gels*, 2023, 9(3): 257.
- [15] PAN X F, WANG Q H, BENETTI D, *et al.* Polyelectrolyte hydrogel: A versatile platform for mechanical-electric conversion and self-powered sensing[J]. *Nano Energy*, 2022, 103: 107718.
- [16] AN Y J, YOSHIDA H, JING Y X, *et al.* Ionic shape memory polymer gels as multifunctional sensors[J]. *Soft Matter*, 2022, 18(36): 6791-6799.
- [17] LI F, CAI X Q, LIU G K, *et al.* Piezoionic SnSe nanosheets-double network hydrogel for self-powered strain sensing and energy harvesting [J]. *Advanced Functional Materials*, 2023, 33(32): 2300701.
- [18] WANG L S (汪力生), SONG T (宋涛), QIN Y (岑钰), *et al.* Effects of physical properties of nanocellulose crystals on dispersion of carbon nanotubes and properties of their composite membranes[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2025, 42(2): 332-344.
- [19] BANGAR S P, HARUSSANI M M, ILYAS R A, *et al.* Surface modifications of cellulose nanocrystals: Processes, properties, and applications[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 130: 107689.
- [20] YANG Y, CHEN Z, ZHANG J X, *et al.* Preparation and applications of the cellulose nanocrystal[J]. *International Journal of Polymer Science*, 2019(5): 1-10.
- [21] ZHAO D W, ZHU Y, CHENG W K, *et al.* Cellulose-based flexible functional materials for emerging intelligent electronics[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(28): 2000619.
- [22] MA W Z, ZHANG P, ZHAO B, *et al.* Swelling resistance and mechanical performance of physical crosslink-based poly(vinyl alcohol) hydrogel film with various molecular weight[J]. *Journal of Polymer Science*, 2019, 57(24): 1673-1683.
- [23] WANG J P, CHEN Y Z, GE X W, *et al.* Gamma radiation-induced grafting of a cationic monomer onto chitosan as a flocculant[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(9): 1752-1757.
- [24] ABDOLLAHI Z, FROUNCHI M, DADBIN S. Synthesis, characterization and comparison of PAM, cationic PDMC and P(AM-co-DMC) based on solution polymerization[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2011, 17(3): 580-586.
- [25] RICCIARDI R, AURIEMMA F, de ROSA C, *et al.* X-ray diffraction analysis of poly(vinyl alcohol) hydrogels, obtained by freezing and thawing techniques[J]. *Macromolecules*, 2004, 37(5): 1921-1927.
- [26] HUANG X M, AO X, YANG L H, *et al.* Preparation and properties of cellulose nanocrystal-based ion-conductive hydrogels[J]. *RSC Advances*, 2023, 13(1): 527-533.
- [27] TRILOLO R, NARTEN A H. Diffraction pattern and structure of aqueous hydrochloric acid solutions at 20 °C[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1975, 63(8): 3624-3631.
- [28] ZHOU J, LU X H, WANG Y R, *et al.* Molecular dynamics study on ionic hydration[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2002, 194/195/196/197: 257-270.
- [29] NIGHTINGALE E. Phenomenological theory of ion solvation. Effective radii of hydrated ions[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1959, 63(9): 566-567.
- [30] ZONG Y, WANG R Q, XU S, *et al.* Flexible piezoelectric nanogenerator based on cellulose nanofibril/MXene composite aerogels for low-frequency energy harvesting[J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2023, 6(10): 9021-9031.
- [31] HE X, ZOU H Y, GENG Z S, *et al.* A hierarchically nanostructured cellulose fiber-based triboelectric nanogenerator for self-powered healthcare products[J]. *Advanced Functional Materials*, 2018, 28(45): 1805540.