

精准反馈微波加热对金线鱼肌原纤维蛋白理化特性的影响

林雅文¹, 任文艳¹, 刘雪洁¹, 仪淑敏¹, 王磊², 励建荣¹, 李学鹏^{1*}

(1. 渤海大学食品科学与工程学院 锦州 121013; 2. 贵州大学酿酒与食品工程学院 贵阳 550025)

摘要:为探究精准反馈微波加热(precision feedback microwave heating, PFMH)对金线鱼肌原纤维蛋白理化特性的影响,该研究以金线鱼肌原纤维蛋白为研究对象,并以传统水浴加热作为对照,测定 PFMH 不同温度和加热时间下肌原纤维蛋白的浊度、表面疏水性、荧光强度、紫外吸收度、热稳定性、凝胶电泳图谱、表面形貌和鱼糜凝胶化学作用力的变化。结果表明,与对照组相比,PFMH 在 85℃ 加热 1 min 后肌原纤维蛋白浊度和表面疏水性分别提高了 129.41% 和 52.51%,荧光光谱呈下降趋势,紫外光谱呈现上升趋势,表明其三级结构发生了改变;差示扫描量热仪结果显示,PFMH 处理的肌原纤维蛋白的降解温度(T_d)提高了 13.65%,焓变值(ΔH)降低了 93.02%,提高了肌原纤维蛋白的热稳定性,防止肌原纤维蛋白的热变性和降解。同时,凝胶电泳图谱和原子力图像表明,85℃ 加热 1 min 有利于肌原纤维蛋白展开,形成致密的凝胶网络结构。化学作用力结果表明,在 85℃ 加热 1 min 后,鱼糜凝胶的疏水相互作用和二硫键含量显著增加($P < 0.05$),促进了肌原纤维蛋白的交联和聚集。综上所述,该研究可为 PFMH 技术在鱼糜制品加工中的应用提供理论参考。

关键词:金线鱼;肌原纤维蛋白;理化特性;精准反馈微波加热

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202411132

中图分类号: S985

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2025)-06-0299-08

林雅文, 任文艳, 刘雪洁, 等. 精准反馈微波加热对金线鱼肌原纤维蛋白理化特性的影响[J]. 农业工程学报, 2025, 41(6): 299-306. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202411132 <http://www.tcsae.org>

LIN Yawen, REN Wenyan, LIU Xuejie, et al. Effects of precision feedback microwave heating on the physicochemical properties of myofibrillar proteins in *Nemipterus virgatus*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2025, 41(6): 299-306. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202411132 <http://www.tcsae.org>

0 引言

金线鱼(*Nemipterus virgatus*)是世界经济鱼类之一,具有高蛋白、低脂肪等优点^[1],是目前加工鱼糜制品最常用的原料。肌原纤维蛋白(myofibrillar proteins, MPs)是鱼肉中的一种盐溶性蛋白,其结构和特性对鱼糜凝胶功能特性有重要影响^[2]。在鱼糜凝胶化过程中,肌原纤维蛋白相互聚集交联,逐渐形成三维网状结构^[2],从而赋予鱼糜制品良好的质地和弹性。然而,传统水浴加热方法在鱼糜凝胶化过程中存在明显不足,长时间停留在凝胶裂解区会导致蛋白质凝胶强度降低,网络结构出现较大空隙,甚至引发蛋白质的严重降解,进而对鱼糜肌原纤维蛋白的功能特性产生不利影响^[3]。

微波加热是一种新型热处理技术,通过使加热物体内部的偶极分子在高频下进行往复运动,从而将微波能量转化为热能,具有热效率高、加热时间短、加热速度快等优点^[4]。在微波加热过程中,鱼糜 MPs 中的极性基

团不断吸收能量产生大量活性自由基,诱导蛋白结构内部发生变化,从而改善蛋白质凝胶的微观结构和凝胶特性^[3]。CAO 等^[5]的研究结果表明,与水浴加热相比,微波加热能够显著增强肌球蛋白分子上极性基团的剧烈波动以及蛋白质构象的变化。此外,FU 等^[6]的研究发现,与水浴加热相比,微波加热不仅可以显著抑制凝胶化阶段的蛋白自溶现象,其形成的蛋白网络结构也更加有序。FENG 等^[7]的研究发现,微波加热暴露了银鱼肌球蛋白的活性巯基和疏水基团,降低了总巯基含量,从而促进了二硫键的形成,提高了蛋白质结构稳定性。WANG 等^[8]的研究结果表明,微波加热可以有效降低组织蛋白酶对 MPs 凝胶的降解作用。目前,微波加热肌原纤维蛋白一般采用间歇加热的方式,虽然蛋白特性优于水浴,但其过程繁琐、温度不易控制。CAO 等^[9]的研究结果表明,相比水浴加热,微波加热与水浴加热联用,可显著提高鱼糜凝胶强度和持水性。LI 等^[10]探讨了微波与超声波联用对金线鱼肌原纤维蛋白结构的影响,结果表明,超声和微波联用对蛋白质的聚集行为、结构和热稳定性的影响高于单一的超声处理。然而,这些方法都存在工艺繁琐、废水排放等问题。

精准反馈微波加热(precision feedback microwave heating, PFMH)是在微波加热的基础上,通过实时监测物料内部温度,对微波加热进行精准调控,当温度未

收稿日期: 2024-11-17 修订日期: 2025-02-13

基金项目: 辽宁省海洋经济发展专项(辽财指环(2022)33号); 黔科合基础-ZK[2022]一般 107

作者简介: 林雅文, 博士, 副教授, 研究方向为水产品加工与贮藏。

Email: linyawen2020@163.com

*通信作者: 李学鹏, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为水产品加工与贮藏。Email: xuepengli8234@163.com

达到预定值时,实现对物料变阶段精准控温加热。加热过程只需设定每个阶段加热所需温度和保温时间,即可自动执行加热过程。与传统微波加热相比,PFMH 技术可以实现更精准的加热模式及温度控制,更好地改善加热产品品质。同时,可以减少人工干预,提高加热效率、安全性和灵活性,使加热过程能精准适应不同样品的特性。与传统水浴加热相比,PFMH 不仅提高了金线鱼鱼糜的凝胶强度,还显著增加了蛋白质二级结构中 β -折叠的含量,从而促进了凝胶微观结构的致密性和蛋白质分布的均匀性^[11]。然而,目前尚无研究报道 PFMH 处理对金线鱼 MPs 理化特性的影响。因此,本研究采用 PFMH 对金线鱼肌原纤维蛋白进行加热,探究其对金线鱼肌原纤维蛋白浊度、表面疏水性、荧光强度、紫外吸收度和鱼糜凝胶化学相互作用力的影响。利用差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 PFMH 对肌原纤维蛋白热稳定性的影响,并结合电泳和原子力显微镜研究其对肌原纤维蛋白聚集程度的影响。本研究旨在为 PFMH 技术在鱼糜制品中的应用提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金线鱼购买于北海桂之海渔业有限公司,质量约 200 g,放于 -20 °C 冰箱中备用。

酒石酸钾钠、磷酸氢二钠、氢氧化钠、尿素、磷酸二氢钠、五水硫酸铜、氯化钠均为分析纯,购于天津市天力化学试剂有限公司;电泳试剂盒、考马斯亮蓝染料、彩虹 245 广谱蛋白 Marker,北京索莱宝科技有限公司;十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)、 β -巯基乙醇,上海麦克林生化科技股份有限公司;SDS 蛋白电泳上样缓冲液,北京鼎国昌盛生物技术有限公司;牛血清白蛋白,天津市华盛化学试剂有限公司。

1.2 仪器设备

FA-1 004 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;Biofuge Stratos 台式高速离心机,美国 Thermo 公司;HH-4 数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;FSH-2A 可调高速均质机,常州苏瑞仪器有限公司;精准反馈微波加热装置,定制于河南省农业科学院;UV-2 550 紫外可见分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;F-7 000 荧光分光光度计,日立高新技术公司;Mini Protean 3 电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;DSCQ2000 差示扫描量热仪,美国 TA 公司;XE-70 原子力显微镜,韩国 Park Systems。

1.3 试验方法

1.3.1 肌原纤维蛋白的提取

参考 MI 等^[12]的方法并稍作修改,将金线鱼流水解冻 30 min 后取其背部肌肉,与 4 倍体积的磷酸盐缓冲液 (pH 值为 7.5,摩尔浓度为 20 mmol/L,下同)混合均匀,于转速 12 000 r/min 的均质机下均质 3 min,4 °C 下 7 500 r/min 离心 15 min,去其上清液,重复上述操作两次后,取最后一轮的沉淀物与 4 倍体积的 NaCl (0.1 mol/L)

充分混合,同上述条件均质离心。取离心后的沉淀物加入 6 倍体积的含 0.1 mol/L 的 NaCl 磷酸盐缓冲液,使用均质机以 12 000 r/min 均质 3 min,用两层纱布过滤后,滤液在 4 °C、8 000 r/min 的条件下离心 15 min,最后所得沉淀为肌原纤维蛋白,4 °C 冰箱保存备用。

1.3.2 肌原纤维蛋白样品的制备

用磷酸盐缓冲液 (含 0.1 mol/L NaCl) 调节肌原纤维蛋白浓度为 60 mg/mL,置于离心管中,随后进行加热凝胶试验。其中,水浴加热 (对照) 条件为 40 °C 加热 30 min (一段),90 °C 加热 20 min (二段);PFMH 加热的条件为:40 °C 加热 7 min (预试验确定),随后加热温度和时间分别为 80 °C 分别加热 2、3 和 4 min、85 °C 分别加热 1、2 和 3 min、以及 90 °C 分别加热 15、30 和 45 s (以下简称为 S₈₀A、S₈₀B、S₈₀C、S₈₅A、S₈₅B、S₈₅C、S₉₀A、S₉₀B、S₉₀C),微波功率 5 W/g,加热完成后,迅速用冰水冷却,于 4 °C 冰箱中储藏 12 h,备用。

1.3.3 浊度测定

参考朱文慧等^[13]的方法并稍作修改。用磷酸盐缓冲液将肌原纤维蛋白浓度调整为 3 mg/mL。以缓冲液为空白,然后在 340 nm 处测定吸光值,以样品吸光值表示样品浊度。

1.3.4 表面疏水性测定

参考张丽等^[14]的方法并稍作修改。取各条件加热后肌原纤维蛋白溶液 1 mL 与 0.2 mL 溴酚蓝 (1 mg/mL) 溶液混合后静置 10 min,4 °C、3 138 r/min 条件下离心 15 min 后将上清液稀释 10 倍,然后在 595 nm 波长处测定吸光值。以磷酸盐缓冲液+0.2 mL 溴酚蓝为空白对照。

$$C_{\text{BPB}} = 200 \times \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \quad (1)$$

式中 C_{BPB} 为溴酚蓝结合量, μg ; $A_{\text{空白}}$ 为磷酸盐缓冲液+0.2 mL 溴酚蓝的吸光度; $A_{\text{样品}}$ 为肌原纤维蛋白溶液+0.2 mL 溴酚蓝的吸光度。

1.3.5 荧光强度和紫外吸收度测定

荧光强度测定参考王振国等^[15]的方法并稍作修改。采用荧光分光光度计测定,用磷酸盐缓冲液将蛋白浓度稀释至 1 mg/mL。测定条件:激发波长 280 nm,狭缝均为 10 nm,发射波长扫描范围 310~400 nm,灵敏度为 2。

紫外吸收度测定参考刘丽莉等^[16]的方法并稍作修改。采用紫外可见分光光度计测定,取蛋白浓度为 1 mg/mL 的蛋白溶液 3 mL,磷酸盐缓冲液为对照,在波长 200~400 nm 区间内扫描得到紫外吸收光谱。

1.3.6 热稳定性分析 (DSC)

参考 LI 等^[10]的方法并稍作修改。称量约 6 mg 蛋白粉末置于固体坩埚内,同时以空固体坩埚为基准。通过差示扫描量热仪测定其吸热峰和焓值 (ΔH)。测试参数:初始温度 20 °C,升温速率 10 °C/min,终止温度 90 °C。

1.3.7 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)

参考任娟蕊^[17]的方法并稍作修改。取 2 g 蛋白溶液

溶与 18 mL 5% (w/v) 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液混合, 在 13 000 r/min 条件下均质 2 min 后在 85 °C 水浴加热 1 h。最后 7 843 r/min 离心 15 min, 收集上清液。将上清液的蛋白质浓度调整为 2 mg/mL, 并以 1:4 (样品: 上样缓冲液) 混合。将样品在 95 °C 水浴中加热 20 min, 电泳使用 12% 分离凝胶和 5% 的浓缩胶, 电泳运行参数: 80 V, 40 min; 120 V, 80 min。电泳结束后, 用考马斯亮蓝 R250 染料染色 15 min, 最后用纯水脱色 2 h, 脱水后的凝胶在清水中保存。

1.3.8 表观形貌测定

参考王艳敏等^[18]的方法并稍做修改, 将蛋白质溶液调整至 20 µg/mL, 将 6 µL 蛋白涂在玻璃片上, 在超净台内自然晾干。用蒸馏水冲洗 3 次以洗去磷酸盐。使用原子力显微镜进行观察。使用 Gwyddion 软件分析原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 图片。

1.3.9 化学相互作用力测定

参考刘欣等^[19]的方法并稍作修改。称取各加热条件处理后的鱼糜凝胶样品 2 g, 再与 18 mL 的 0.05 mol/L NaCl (A)、0.6 mol/L NaCl (B)、0.6 mol/L NaCl + 1.5 mol/L 尿素 (C), 0.6 mol/L NaCl+8.0 mol/L 尿素 (D), 0.6 mol/L NaCl+8.0 mol/L+ 0.05 mol/L β-巯基乙醇 (E), 混合均质 (10 000 r/min, 2 min), 然后在 4 °C 反应 1 h, 再 10 000 r/min 下离心 10 min, 通过 Bradford 法测定上清液中蛋白浓度。离子键含量、氢键含量、疏水相互作用及二硫键含量计算如式 (2) ~ (5) 所示。

$$L = C_B - C_A \quad (2)$$

$$Q = C_C - C_B \quad (3)$$

$$S = C_D - C_C \quad (4)$$

$$E = C_E - C_D \quad (5)$$

式中 C_A 、 C_B 、 C_C 、 C_D 、 C_E 分别为 A、B、C、D、E 溶液中的蛋白质浓度, g/L; L 为离子键含量, g/L; Q 为氢键含量, g/L; S 为疏水相互作用, g/L; E 为二硫键含量, g/L。

1.3.10 数据处理

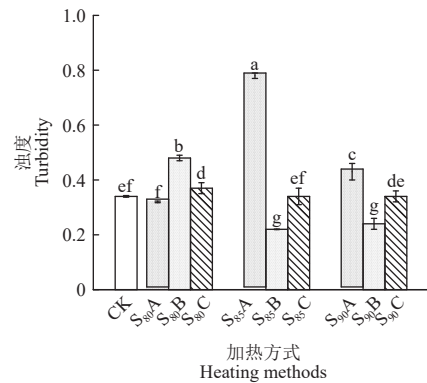
采用 SPSS22.0 进行方差分析和 Duncan 检验分析, 采用 Origin2023 软件进行数据绘图。所有试验重复 3 次, 结果表示为平均值 ± 标准偏差。

2 结果分析与讨论

2.1 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白浊度的影响

浊度反映了蛋白溶液中悬浮颗粒的数量和大小, 能够用来体现蛋白质的聚集程度^[13]。蛋白质聚集会导致溶液中悬浮颗粒的直径增大, 从而提高蛋白质的浊度^[9]。由图 1 可知, 与对照组相比, PFMH 的肌原纤维蛋白浊度在 $S_{80}B$ 和 $S_{80}C$ 、 $S_{85}A$ 、 $S_{90}A$ 时浊度均显著 ($P < 0.05$) 高于对照组, 说明 PFMH 可以增加肌原纤维蛋白的聚集程度。PFMH 处理的肌原纤维蛋白浊度在 80 °C 加热时随着时间的延长浊度呈现先升高后降低的趋势。与对照

组相比, PFMH 在 $S_{85}A$ 的肌原纤维蛋白浊度最大, 为 0.78, 相比对照组 (0.34) 提高了 129.41%, 表明 PFMH 处理在 $S_{85}A$ 时会促进蛋白质结构展开, 暴露出更多交联位点。PFMH 处理在 90 °C 处理时 $S_{90}B$ 浊度低于对照组, $S_{90}A$ 则相反, 这可能是因为蛋白颗粒迅速聚集, 形成较大的聚集体后沉降导致的^[9]。CAO 等^[9]的研究也发现当微波温度达到 90 °C 时, 肌球蛋白浊度呈现先升高后降低的趋势。



注: CK 为对照组 (水浴加热); $S_{80}A$ 、 $S_{80}B$ 、 $S_{80}C$ 分别为 80 °C 微波加热 2、3、4 min; $S_{85}A$ 、 $S_{85}B$ 、 $S_{85}C$ 分别为 85 °C 微波加热 1、2、3 min; $S_{90}A$ 、 $S_{90}B$ 、 $S_{90}C$ 分别为 90 °C 微波加热 15、30、45 s。不同小写字母表示不同加热方式间具有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

Note: CK is the control group (water bath heating); $S_{80}A$, $S_{80}B$, and $S_{80}C$ represent microwave heating at 80 °C for 2, 3, 4 min, respectively; $S_{85}A$, $S_{85}B$, and $S_{85}C$ represent microwave heating at 85 °C for 1, 2, 3 min, respectively; $S_{90}A$, $S_{90}B$, and $S_{90}C$ represent microwave heating at 90 °C for 15, 30, 45 s, respectively. Distinct lowercase letters signify that there are statistically significant differences among various heating methods. ($P < 0.05$), the same below.

图 1 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白浊度的影响

Fig.1 Effects of heating methods on the turbidity of myofibrillar proteins (MPs) in *Nemipterus virgatus*

2.2 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

表面疏水性是表征蛋白质变性程度的重要指标。蛋白质疏水位点暴露的越多, 越容易与溴酚蓝结合^[20]。图 2 显示了加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白表面疏水性的影响。与对照组相比, PFMH 在 $S_{80}A$ 、 $S_{85}A$ 、 $S_{85}B$ 、 $S_{85}C$ 、 $S_{90}A$ 、 $S_{90}B$ 和 $S_{90}C$ 的溴酚蓝结合量显著高于对照组 ($P < 0.05$), 表明肌原纤维蛋白开始展开, 并暴露隐藏的非极性氨基酸, 从而促进了蛋白质的变性。这与 CAO 等^[9]的研究结果相似。PFMH 在 $S_{80}C$ 时溴酚蓝结合量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 表明 PFMH 在此条件下肌原纤维蛋白构象的变化程度小于对照组, 也表明 PFMH 在 80 °C 长时间加热下对肌原纤维蛋白构象的改变具有抑制作用^[7]。PFMH 处理的肌原纤维蛋白在 S_{80} 、 S_{85} 和 S_{90} 条件下, 随加热时间延长, 溴酚蓝结合量逐渐降低, 这可能是由于加热时间延长导致蛋白疏水基团暴露, 进而引起蛋白交联形成聚集体, 使蛋白的疏水残基可能被嵌入聚集体内部, 从而导致表面疏水性下降^[21]。此外, 与对照组相比, PFMH 在 $S_{85}A$ 的溴酚蓝结合量最大 (177.45 µg), 相比对照组 (116.35 µg) 提高了 52.51%, 这可能与其肌原纤维蛋白的热稳定高有关^[14]。

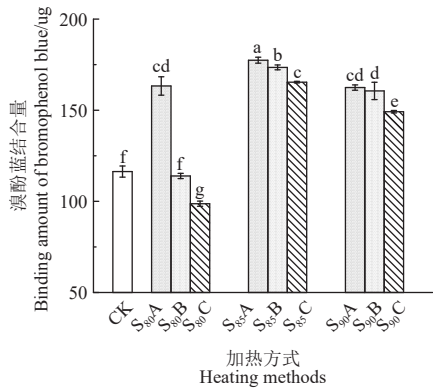


图 2 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白表面疏水性的影响
Fig.2 Effects of heating methods on the surface hydrophobicity of MPs in *Nemipterus virgatus*

2.3 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白荧光强度和紫外吸收度的影响

蛋白分子中色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸对所处的微环境变化十分敏感，当激发波长为 295 nm 时，色氨酸具有最强荧光。因此，蛋白质荧光光谱是一种常用的分析蛋白质构象变化的方法^[22-23]。图 3 显示了不同加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白内源荧光强度的影响。与对照相比，PFMH 在 S₈₀C、S₈₅A、S₈₅B、S₈₅C、S₉₀A、S₉₀B 和 S₉₀C 的样品荧光强度下降，而 S₈₀A 和 S₈₀B 的荧光强度升高。表明 PMFH 处理能够引起蛋白质构象发生变化。PFMH 在 S₈₀A 和 S₈₀B 的荧光强度高于对照，可能是 PMFH 在 80 °C 短时间处理时会导致一些色氨酸残基被包埋在肌原纤维蛋白分子内^[24]。此外，S₈₅A 的荧光强度下降最明显，这表明在此条件下色氨酸残基发生了猝灭反应，可能是因为 PMFH 处理导致蛋白分子间的疏水相互作用增加，继而处于激发态的蛋白氧化聚集体分子间发生动态的荧光猝灭，导致荧光分子出现光度下降的现象^[25]。

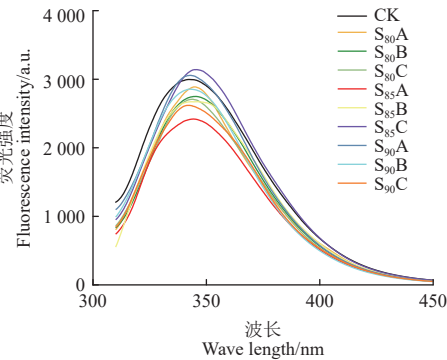


图 3 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白荧光强度的影响
Fig.3 Effects of heating methods on the fluorescence intensity of MPs in *Nemipterus virgatus*

紫外光谱是表征蛋白质三级结构变化的一种常用方法，蛋白质由于色氨酸与赖氨酸残基对光的吸收在 280 nm 附近存在吸收峰^[26]。由图 4 可知，所有样品在 280 nm 左右具有吸收峰，可能与芳香族氨基酸暴露有关^[27]。与对照相比，PFMH 处理在 S₈₀A、S₈₀B、S₈₀C、S₈₅A、S₈₅B、S₈₅C 和 S₉₀A 的肌原纤维蛋白紫外特征峰强度有所增加。这表明于 PMFH 加热展开了更多的蛋白质构象，暴露了

更多的芳香残基。其中 S₈₅A 的紫外吸收峰强度最高，可能是由于 PMFH 在 S₈₅A 时更多的芳香族氨基酸残基会暴露于蛋白表面。然而，在 S₉₀B 和 S₉₀C 时紫外吸光值与 PMFH 的其他条件相比明显降低，可能是高分子量聚合物的形成导致非极性芳香族氨基酸残基部分被掩埋^[28]。同样地，ZHANG 等^[29]对肌球蛋白的研究也发现高温会导致紫外吸收强度下降。

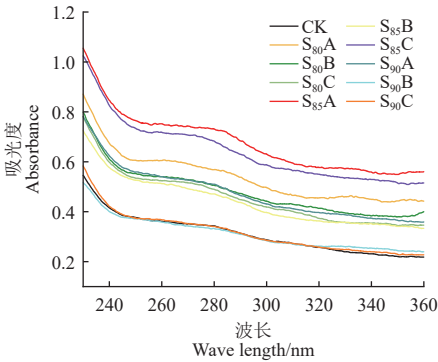


图 4 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白紫外吸收度的影响
Fig.4 Effects of heating methods on the ultraviolet absorbance of MPs in *Nemipterus virgatus*

2.4 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白热稳定性的影响

T_d 值（降解温度）描述了发生热变性的温度点，而 ΔH （焓变值）是蛋白质变性所需热量，反映了未变性蛋白质比例^[10]。与对照组相比，PFMH 处理后 T_d 值均高于对照组（表 1），表明 PMFH 处理提高了 MPs 的变性温度。 T_d 和 ΔH 与蛋白聚集行为、构象、分子间作用力以及氨基酸组成高度相关^[30]。由表 1 可知，与对照组相比，PFMH 在 S₈₅A 的肌原纤维蛋白 T_d 值最大为 62.20 °C，比对照组（54.73 °C）提高了 13.65%， ΔH 相比于对照组（0.43 J/g）降低至 0.03 J/g，降低了 93.02%，表明 PMFH 在 S₈₅A 产生了更稳定的蛋白结构和更多的未折叠构象。WANG 等^[31]的研究也观察到了微波处理时猪肉中肌原纤维蛋白的 ΔH 最低。综上所述，PFMH 处理能够提高金线鱼中 MPs 的热稳定性。

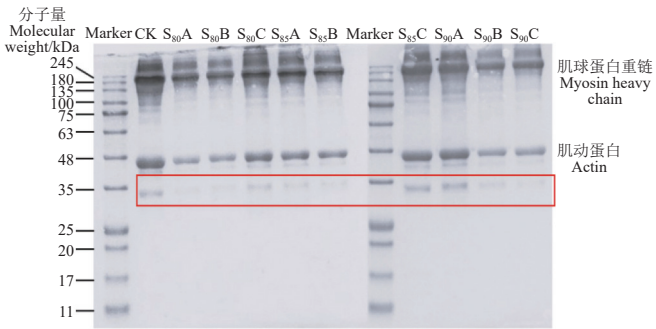
表 1 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白热稳定性的影响
Table 1 Effects of heating methods on the thermal stability of MPs in *Nemipterus virgatus*

加热方式 Heating methods	加热条件 Heating conditions	$T_d/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J}\cdot\text{g}^{-1})$
水浴加热 Water-bath heating	CK	54.73±0.22 ^b	0.43±0.02 ^b
	S ₈₀ A	59.36±4.87 ^{ab}	0.45±0.07 ^b
	S ₈₀ B	56.30±0.54 ^{ab}	0.75±0.18 ^a
	S ₈₀ C	55.49±2.48 ^{ab}	0.66±0.06 ^a
PFMH	S ₈₅ A	62.20±5.91 ^a	0.03±0.01 ^e
	S ₈₅ B	57.09±1.94 ^{ab}	0.17±0.03 ^{de}
	S ₈₅ C	62.06±1.14 ^a	0.23±0.02 ^{cd}
	S ₉₀ A	60.89±1.17 ^{ab}	0.24±0.01 ^{cd}
	S ₉₀ B	59.86±0.72 ^{ab}	0.33±0.03 ^{bcd}
	S ₉₀ C	62.10±1.17 ^a	0.39±0.09 ^{bc}

注：PFMH 为精准反馈微波加热，同一指标中，不同小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ）， T_d 值为降解温度， ΔH 为焓变值，下同。
Note: PMFH is precision feedback microwave heating, in the same indicator, different lowercase letters indicate significant differences. ($P < 0.05$). T_d value is the degradation temperature, ΔH is the enthalpy change value, the same below.

2.5 加热方式对金线肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 的影响

SDS-PAGE 图像可以直观地反映整个热处理过程中蛋白的降解、聚集和交联^[32]。由图 5 可知，凝胶蛋白质条带主要以肌球蛋白重链（MHC，180 kDa）和肌动蛋白（Actin，48 kDa）为主，MHC 与蛋白质网络结构密切相关。与对照组相比，PFMH 处理的肌原纤维蛋白在 S₈₀A、S₈₀B、S₈₅A、S₈₅B、S₉₀B 和 S₉₀C 的肌球蛋白重链条带颜色较浅，表明 PMFH 处理后蛋白重链部分发生解聚，从而导致蛋白质原本连在一起的多肽链发生解离^[33]。同时，肌原纤维蛋白的肌动蛋白条带也有变浅，说明肌动蛋白含量较少且发生了一定程度的降解。PFMH 处理在 S₈₀C、S₈₅C 和 S₉₀A 的肌球蛋白重链蛋白条带颜色较深，表明加热时间长或者高温会导致蛋白质过度交联，分子量变大。CONG 等^[24]使用 90 ℃ 微波间歇处理银鲤鱼中提取的肌球蛋白，发现长时间微波加热后肌球蛋白的条带颜色也变深，与本研究结果一致。此外，与对照组相比，S₈₅C 和 S₉₀A 在 25~35 kDa 处出现的新条带颜色较深，表明在此条件下肌原纤维蛋白发生的降解和聚集较为明显。



注：Marker 为蛋白质分子量的标准。
Note: Marker is the standard of protein molecular weight.

图 5 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 图像的影响
Fig.5 Effects of heating methods on sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) images of MPs in *Nemipterus virgatus*

2.6 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白表现形貌的影响

AFM 作为一种常规的微观表征工具，可用于测量纳米尺度下单分子形态的变化^[34]。与水浴加热相比，PFMH 处理的肌原纤维蛋白分布和聚集程度发生了显著变化（图 6），PFMH 在 S₈₀A 的肌原纤维蛋白簇大小不一且分布不均匀，S₈₀B 的蛋白簇分布相对均匀，S₈₀C 时肌原纤维蛋白分子聚集体积变大，但蛋白簇数量少。PFMH 在 S₈₅A 的肌原纤维蛋白簇的聚集程度逐渐变大，聚集体积也相应增加，表明 S₈₅A 的肌原纤维蛋白聚集体之间的交联度较高。而随着时间的增加 S₈₅B 和 S₈₅C 的蛋白簇逐渐减少，这可能是因为长时间加热会加剧肌原纤维蛋白的聚集和变性，从而对蛋白理化和功能特性产生一些负面作用。在 90 ℃ 加热时，S₉₀A 和 S₉₀B 的蛋白簇体积增大但是数量减少，这是由于肌球蛋白的聚集行为更加强烈，肌球蛋白簇的体积快速增大，导致数量减少^[9]。

2.7 加热方式对金线鱼鱼糜凝胶化学相互作用力的影响

在不同加热方式处理下，鱼糜凝胶中化学相互作用力的变化如表 2 所示。与对照相比，PFMH 过程中各种化学相互作用力的含量之间大多具有显著性差异（ $P < 0.05$ ）。PFMH 处理后离子键含量减少，可能是因为 PMFH 阻止了蛋白质之间和金线鱼肌球蛋白内部离子键的形成^[35]。与对照组相比，PFMH 在 S₈₅A 的氢键含量最大为 3.06 g/L，比对照组（2.67 g/L）提高了 14.61%，表明其凝胶强度高于对照组。疏水相互作用和二硫键是影响凝胶性能和维持凝胶网络结构的主要作用力^[36]，PFMH 处理后的凝胶疏水相互作用增强，与对照组相比，尤其是在 S₈₅A 时，鱼糜凝胶的疏水相互作用提高了 105.60%，增强最为明显。这可能是因为 PMFH 有助于疏水基团的暴露，因此，在热诱导的凝胶化过程中，疏水相互作用增强。与对照相比，PFMH 处理的 S₈₀B、S₈₀C、S₈₅A、S₈₅C 和 S₉₀A 二硫键含量显著增加（ $P < 0.05$ ），且在 S₈₅A 时，二硫键含量提高了 97.80%，表明在 PMFH 过程中，更多埋在蛋白质中的巯基暴露出来，并通过交联生成二硫键。CAO 等^[5, 37]的研究中也发现微波可以促进蛋白疏水相互作用和二硫键含量的增加，同时还会引起蛋白质构象的变化和巯基位置的移动，从而影响凝胶网络结构。

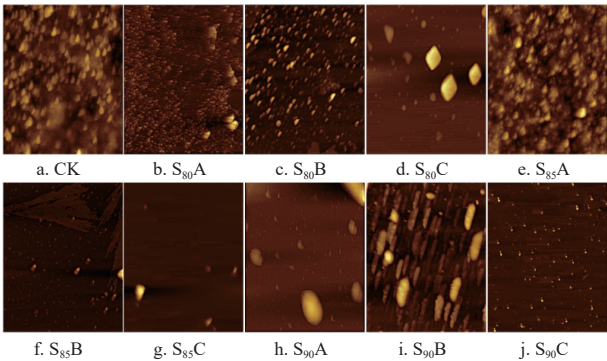


图 6 加热方式对金线鱼肌原纤维蛋白表现形貌的影响
Fig.6 Effects of heating methods on the apparent morphology of MPs in *Nemipterus virgatus*

表 2 加热方式对金线鱼鱼糜凝胶化学相互作用力的影响
Table 2 Effects of heating methods on the chemical interaction forces of surimi gel in *Nemipterus virgatus* g·L⁻¹

加热方式	加热条件	离子键含量	疏水相互作用	氢键含量	二硫键含量
Heating methods	Heating conditions	Ionic bond content	Hydrophobic interaction	Hydrogen bond content	Disulfide bond content
水浴加热	CK	1.04±0.46 ^a	1.25±0.30 ^{bcd}	2.67±0.20 ^{ab}	0.91±0.11 ^e
	S ₈₀ A	0.87±0.11 ^{bc}	0.87±0.23 ^{def}	2.91±0.30 ^a	0.84±0.22 ^e
	S ₈₀ B	0.94±0.31 ^{ab}	1.27±0.24 ^{bcd}	2.03±0.42 ^{bcd}	1.43±0.04 ^{bc}
	S ₈₀ C	0.33±0.02 ^{de}	1.70±0.30 ^b	1.50±0.35 ^{de}	1.37±0.25 ^e
	S ₈₅ A	0.56±0.12 ^{bcd}	2.57±0.26 ^a	3.06±0.15 ^a	1.80±0.14 ^a
PFMH	S ₈₅ B	0.55±0.26 ^{bcd}	1.41±0.44 ^{bc}	0.59±0.06 ^f	0.71±0.01 ^e
	S ₈₅ C	0.51±0.10 ^{cde}	1.49±0.31 ^{bc}	1.83±0.08 ^{cde}	1.61±0.04 ^{ab}
	S ₉₀ A	1.20±0.01 ^a	1.19±0.13 ^{cde}	1.61±0.10 ^{cde}	1.14±0.03 ^a
	S ₉₀ B	0.15±0.02 ^e	0.64±0.10 ^f	2.36±0.53 ^{abc}	0.86±0.07 ^e
	S ₉₀ C	0.48±0.08 ^{cde}	0.68±0.10 ^{ef}	1.16±0.50 ^{ef}	0.31±0.01 ^f

3 结 论

本研究通过分析金线鱼肌原纤维蛋白浊度、表面疏水性、荧光强度、紫外吸收度、蛋白热稳定性、凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、微观结构和鱼糜凝胶的化学相互作用力, 研究精准反馈微波加热 (precision feedback microwave heating, PFMH) 对其理化特性的影响, 并得到以下结论:

1) 与水浴加热相比, PFMH 在 $S_{85}A$ ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$, 微波加热 1 min) 时浊度和表面疏水性显著提高 ($P<0.05$)。此外, 荧光强度降低, 紫外吸收度上升, 表明 PFMH 处理能够稳定肌原纤维蛋白的三级结构。在 PFMH 过程中, 疏水相互作用和二硫键的含量显著增加 ($P<0.05$), 鱼糜凝胶的凝胶特性和网络结构得到改善。差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 结果表明, PFMH 在 $S_{85}A$ 时蛋白质稳定性增强, T_d 值 (降解温度) 最大。

2) 原子力图像和凝胶电泳图谱的结果表明, PFMH 在 $S_{85}A$ 能够促进肌原纤维蛋白的展开, 蛋白质之间的疏水相互作用增加, 从而诱导蛋白质聚集, 形成颗粒分布均匀的蛋白簇。

本研究结果阐明了 PFMH 不同加热温度和时间对肌原纤维蛋白理化特性好结构的影响, 为进一步改善鱼糜制品的品质, 使 PFMH 技术更好地应用于食品工业生产提供了一定的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] 钟坦君, 洪鹏志, 周春霞, 等. 没食子酸对金线鱼鱼糜凝胶特性及其体外消化产物活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 76-84.
ZHONG Tanjun, HONG Pengzhi, ZHOU Chunxia, et al. Effect of gallic acid on gel properties and in vitro activity of digested products of *Nemipterus virgatus* surimi[J]. Food Science, 2022, 43(14): 76-84. (in Chinese with English abstract)
- [2] 常珂欣, 范馨茹, 于双, 等. 水产动物肌原纤维蛋白结构、功能特性与改性机制研究进展[J]. 大连海洋大学学报, 2024, 39(3): 529-538.
CHANG Kexin, FAN Xinru, YU Shuang, et al. Progress in research on structure, functional properties and modification myofibrillar proteins from aquatic animals: A review[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2024, 39(3): 529-538. (in Chinese with English abstract)
- [3] XIONG Z Y, SHI T, JIN W G, et al. Gel performance of surimi induced by various thermal technologies: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 64(10): 3075-3090.
- [4] 韩柯颖, 魏苏萌, 杨玉玲, 等. 响应面法优化微波加热制备肌原纤维蛋白凝胶工艺[J]. 肉类研究, 2020, 34(9): 31-38.
HAN Keying, Wei Sumeng, YANG Yuling, et al. Optimization of microwave-assisted preparation of heat-induced myofibrillar protein gel by response surface methodology[J]. Meat Research, 2020, 34(9): 31-38. (in Chinese with English abstract)
- [5] CAO H W, FAN D M, JIAO X D, et al. Effects of microwave combined with conduction heating on surimi quality and morphology[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 228: 1-11.
- [6] FU X J, KHIZAR H, LI Z H, et al. Effect of microwave heating on the low-salt gel from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27(2): 301-308.
- [7] FENG D D, XUE Y, LI Z J, et al. Effects of microwave radiation and water bath heating on the physicochemical properties of actomyosin from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during setting[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(4): 13031.
- [8] WANG Q, JIAO X D, YAN B W, et al. Inhibitory effect of microwave heating on cathepsin l-induced degradation of myofibrillar protein gel[J]. Food Chemistry, 2021, 357: 129745.
- [9] CAO H W, JIAO X D, FAN D M, et al. Microwave irradiation promotes aggregation behavior of myosin through conformation changes[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 11-19.
- [10] LI Z Y, WANG J Y, ZHENG B D, et al. Impact of combined ultrasound-microwave treatment on structural and functional properties of golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myofibrillar proteins and hydrolysates[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 65: 105063.
- [11] LIU X J, CHI J H, LIN Y W, et al. Mechanistic insights into combined effects of continuous microwave heating and tremella powder addition on physicochemical properties of *Nemipterus virgatus* surimi gel[J]. Food Chemistry, 2024, 460: 140752.
- [12] MI H B, YANG Y C, YI S M, et al. Effect of γ -oryzanol/ β -sitosterol-based oleogels on the physicochemical and gel properties of *Nemipterus virgatus* myofibrillar protein[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(13): 8120-8129.
- [13] 朱文慧, 郭慧芳, 单春雨, 等. 微波纳米解冻对秘鲁鱿鱼保水性和蛋白结构的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(8): 146-151.
ZHU Wenhui, GUO Huifang, SHAN Chunyu, et al. Effects of microwave nanoparticles thawing on water holding capacity and protein structure of jumbo squid (*Dosidicus gigas*)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(8): 146-151. (in Chinese with English abstract)
- [14] 张丽, 王惠惠, 宋艳艳, 等. IOS 和 MOS 对牦牛肌原纤维蛋白生化与功能特性的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(9): 308-314.
ZHANG Li, WANG Huihui, SONG Yanyan, et al. Effects of MOS and IOS on the biochemical and functional traits of myofibrillar proteins of yak[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(9): 308-314. (in Chinese with English abstract)
- [15] 王振国, 高育哲, 时家峰, 等. 挤压温度对大豆分离蛋白与原花青素复合物结构和功能特性的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(21): 279-286.
WANG Zhenguo, GAO Yuzhe, SHI Jiafeng, et al. Effects of extrusion temperature on the functional and structural properties of soybean protein isolate and proanthocyanidin complex[J]. Transactions of the Chinese Society of

- Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(21): 279-286. (in Chinese with English abstract)
- [16] 刘丽莉, 于影, 苏克楠, 等. 植物多酚-牛血清白蛋白相互作用及对蛋白质结构的影响[J]. 农业工程学报, 2023, 39(13): 290-298.
LIU Lili, YU Ying, SU Kenan, et al. Polyphenol-bovine serum albumin interaction and its influence on protein structure[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(13): 290-298. (in Chinese with English abstract)
- [17] 任娟蕊, 傅婧, 赵习爱. 亚麻籽分离蛋白结构表征及其性能分析[J]. 农业工程学报, 2024, 40(5): 326-336.
REN Juanrui, FU Jing, ZHAO Xia. Structural characterization and performance analysis of flaxseed isolate protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2024, 40(5): 326-336. (in Chinese with English abstract)
- [18] 王艳敏, 于加美, 石彤, 等. 原子力显微镜研究 L-半胱氨酸对鲢肌球蛋白溶液热聚集行为的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(14): 1-8.
WANG Yanmin, YU Jiamei, SHI Tong, et al. Influence of L-Cysteine on the heat-induced aggregation of bighead carp myosin studied by atom force microscope[J]. Food Science, 2018, 39(14): 1-8. (in Chinese with English abstract)
- [19] 刘欣, 姜鹏飞, 傅宝尚, 等. 高压均质改性竹笋膳食纤维对虾糜凝胶特性及化学作用力的影响[J]. 食品科学, 2023, 45(11): 192-200.
LIU Xin, JIANG Pengfei, FU Baoshang, et al. Effect of high-pressure homogenization modified bamboo shoot dietary fiber on gelation properties and chemical Interactions of shrimp surimi[J]. Food Science, 2023, 45(11): 192-200. (in Chinese with English abstract)
- [20] 李艳青, 孔保华, 杨赫鸿, 等. 自由基氧化引起鲤鱼肌原纤维蛋白结构的变化[J]. 食品科学, 2012, 33(13): 70-74.
LI Yanqing, KONG Baohua, YANG Hehong, et al. Structural changes of common carp myofibrillar (MPI) influenced by hydroxyl radical system[J]. Food Science, 2012, 33(13): 70-74. (in Chinese with English abstract)
- [21] 王天泽, 杨平, 黄峰, 等. 热处理过程中肌肉蛋白与萜类化合物相互作用机制[J]. 农业工程学报, 2023, 39(17): 286-294.
WANG Tianze, YANG Ping, HUANG Feng, et al. Interaction mechanisms for the muscle proteins with terpenoid compounds during heat treatment[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(17): 286-294. (in Chinese with English abstract)
- [22] 党慧杰, 郑远荣, 刘振民. 超高压处理对乳清分离蛋白结构及致敏蛋白含量的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 56-61.
DANG Huijie, ZHENG Yuanrong, LIU Zhenmin. Effects of ultra-high pressure on the structure of whey protein isolate and the content of allergenic protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(6): 56-61. (in Chinese with English abstract)
- [23] 张燕, 李升升, 赵立柱, 等. 烹饪温度对牦牛肉蛋白质氧化和体外消化特性的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 9-16.
ZHANG Yan, LI Shengsheng, ZHAO Lizhu, et al. Effect of cooking temperature on protein oxidation and in vitro digestive properties of yak meat[J]. Food Science, 2024, 45(2): 9-16. (in Chinese with English abstract)
- [24] CONG H H, LYU H, LIANG W W, et al. Changes in myosin from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) under microwave-assisted water bath heating on a multiscale[J]. Foods, 2022, 11(8): 1071.
- [25] 江连洲, 王一畅, 马依彤, 等. 微波对大豆蛋白氧化聚集体结构及功能特性的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 39(9): 261-269.
JIANG Lianzhou, WANG Yichang, MA Yitong, et al. Effects of microwave treatment on the structural and functional properties of oxidized aggregated soybean proteins[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 39(9): 261-269. (in Chinese with English abstract)
- [26] 刘珍, 王金厢, 李学鹏, 等. 大豆分离蛋白与金线鱼肌球蛋白的相互作用对其凝胶特性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 122-130.
LIU Zhen, WANG Jinxiang, LI Xuepeng, et al. Effect of interaction between soy protein isolate and *Nemipterus virgatus* myosin on its gel properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(16): 122-130. (in Chinese with English abstract)
- [27] HUANG Y, DU H Y, KAMA G M, et al. Studies on the binding Interactions of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) myosin with chlorogenic acid and rosmarinic acid[J]. Food and Bioprocess Technology, 2020, 13(8): 1421-1434.
- [28] WANG K Q, LUO S Z, ZHONG X Y, et al. Changes in chemical interactions and protein conformation during heat-induced wheat gluten gel formation[J]. Food Chemistry, 2017, 46(16): 393-399.
- [29] ZHANG M, ZHU S R, LI Q, et al. Effect of thermal processing on the conformational and digestive properties of myosin[J]. Foods, 2023, 12(6): 1249.
- [30] CHEN X, ZHOU R Y, XU X L, et al. Structural modification by high-pressure homogenization for improved functional properties of freeze-dried myofibrillar proteins powder[J]. Food Research International, 2017, 100: 193-200.
- [31] WANG B, KONG B H, LI F F, et al. Changes in the thermal stability and structure of protein from porcine *longissimus dorsi* induced by different thawing methods[J]. Food Chemistry, 2020, 316: 126375.
- [32] 李颖畅, 师丹华, 赵淞民, 等. 超声波辅助没食子酸对鲈鱼肌原纤维蛋白结构特性的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(7): 88-98.
LI Yingchang, SHI Danhua, ZHAO Songmin, et al. Effect of gallic acid on structural properties of lateolabrax japonicus myofibrillar protein under ultrasonic treatment[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(7): 88-98. (in Chinese with English abstract)
- [33] 李京九, 宋明菲, 牛越, 等. 超高压处理过程中卤鸭腿肌原纤维蛋白结构变化[J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 1-8.
LI Jingjiu, SONG Mingfei, NIU Yue, et al. Structural changes of myofibrillar proteins in marinated duck drumsticks during high pressure processing treatment[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(2): 1-8. (in Chinese with English abstract)

abstract)

- [34] XUE S W, YANG H J, WANG H H, et al. High-pressure effects on the molecular aggregation and physicochemical properties of myosin in relation to heat gelation[J]. *Food Research International*, 2017, 99: 413-418.
- [35] HE X L, LV Y N, LI X P, et al. Improvement of gelation properties of silver carp surimi through ultrasound-assisted water bath heating[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 83: 105942.
- [36] ZHANG T, WANG J, FENG J Q, et al. Effects of ultrasonic-microwave combination treatment on the physicochemical, structure and gel properties of myofibrillar protein in *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) surimi[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 90: 106218.
- [37] YAN B W, JIAO X D, ZHU H P, et al. Chemical interactions involved in microwave heat-induced surimi gel fortified with fish oil and its formation mechanism[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105779.

Effects of precision feedback microwave heating on the physicochemical properties of myofibrillar proteins in *Nemipterus virgatus*

LIN Yawen¹, REN Wenyan¹, LIU Xuejie¹, YI Shumin¹, WANG Lei², LI Jianrong¹, LI Xuepeng^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, China;

2. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: This study aims to explore the effects of precision feedback microwave heating (PFMH) on the physicochemical properties of myofibrillar proteins (MPs) of *Nemipterus virgatus*. The MPs were collected from the *Nemipterus virgatus* as the research subject. Traditional water bath heating (40 °C for 30 min, and 90 °C for 20 min) was taken as the control. A systematic investigation was also made on the impacts of PFMH on the protein's turbidity, surface hydrophobicity, fluorescence intensity, ultraviolet (UV) absorbance thermal stability, gel electrophoresis patterns, surface morphology, and surimi gel chemical interactions under various temperatures and heating durations. Results showed that the turbidity and surface hydrophobicity of MPs significantly increased after PFMH treatment, compared with the control group. Both increases also indicated protein aggregation and denaturation, which were critical to understanding the variations in the internal structure of the protein. Specifically, the turbidity of MPs reached 0.78 when heated under S₈₅A conditions, which was an increase of 129.41%, compared with the control group (0.34). Meanwhile, the surface hydrophobicity increased to 177.45 μg, representing a 52.51% increase, compared with the control group (116.35 μg). As such, the PFMH treatment altered the tertiary structure of the protein. The lowest intensity of fluorescence was at S₈₅A, indicating that the PFMH treatment enhanced intermolecular interactions within the protein. Specifically, the PFMH treatment led to the dynamic fluorescence quenching of protein oxidative aggregates in the excited state, resulting in reduced fluorescence intensity. There was a higher fluorescence intensity of myofibrillar protein treated with PFMH at low temperatures (80 °C for 2 and 3 min), compared with the control. The reason was possibly that the rapid PFMH treatment caused some tryptophan residues to be buried within the MPs molecules. Conversely, the UV absorbance exhibited an upward trend, indicating that the PFMH heating induced the conformational changes in the protein structure. The exposure of more aromatic residues led to more effective UV light. Thermal stability was assessed using differential scanning calorimetry (DSC). The results showed that the PFMH treatment significantly enhanced the thermal stability of MPs. Furthermore, the degradation temperature (T_d) of the MPs under S₈₅A conditions reached the maximum of 62.20 °C, an increase of 13.65%, compared with the control group (54.73 °C). The enthalpy change (ΔH) decreased from 0.43 J/g in the control group to 0.03 J/g, representing a 93.02% reduction. As such, the PFMH treatment effectively prevented the thermal denaturation and degradation of MPs at elevated temperatures. Gel electrophoresis patterns and atomic force microscopy (AFM) images further revealed the structural changes induced by PFMH treatment. The MPs also unfolded to form a dense gel network structure under the S₈₅A condition. Additionally, the AFM images indicated that the size of MPs aggregates increased, while the quantities decreased after PFMH treatment at 90 °C. Chemical interactions revealed that the maximum content of hydrogen bond was 3.06 g/L after heating at S₈₅A conditions, which was 14.61% higher than that of the control group (2.67 g/L). Meanwhile, the hydrophobic interactions and disulfide bonds increased by 105.60% and 97.80%, respectively. However, the ionic bonds decreased after PFMH treatment, compared with the control group. The cross-linking and aggregation of MPs were promoted to form a more stable and compact protein structure. In conclusion, these findings demonstrated that the PFMH treatment significantly affected the physicochemical properties of MPs in *Nemipterus virgatus*. The protein denaturation and aggregation also induced the structural changes to enhance the thermal stability and the formation of dense gel networks. The heating processing of surimi products can also offer potential reference data for the future application of PFMH technology.

Keywords: *Nemipterus virgatus*; myofibrillar proteins; physicochemical properties; precision feedback microwave heating