

# 野菜の加熱調理に関する研究（第5報）

## 野菜の軟化に及ぼす pH の影響

渕 上 倫 子

### 緒 論

野菜を加熱調理する際、酢れんこん、酢ごぼうなどのように、煮汁中に酢を加えて加熱すると水煮した場合より柔らかくなりにくく、歯切れが良い。一方、煮汁に重曹を加えて加熱すると煮くずれを起すことが経験的に知られている。

野菜を煮たときの煮汁の pH と硬さについての研究は J. C. Hughes ら<sup>1)</sup>のじゃがいもを pH 4.5~6 で加熱したとき pH が低いほど硬いという報告と、 Sterling<sup>2)</sup> のにんじんを pH 3~8 で加熱したとき pH 3 が最もかたく、pH 4~6 の間は大きな差がなく pH 7~8 で柔らかいという報告があり、いずれもペクチン質との関係を調べていない。後藤ら<sup>3)</sup>はれんこんを pH 4.1~6.5 で加熱したときペクチンが溶出する pH とペクチンが熱溶液中で分解する pH とが大体一致することから、野菜を煮て柔らかくなるのは細胞壁に含まれているペクチン質の中、主にペクチンがトランスエリミネーションによって分解するためであると報告している。

野菜の細胞壁にはペクチン質を多量に含んでいる場合が多く、このペクチン質が細胞のセメントの役割を果して野菜の硬さを保っている。野菜を加熱調理する際、ペクチン質が分解し、細胞の外に溶出すると野菜はマセレーション（離解）を起し軟らかくなる。

ペクチン質には主としてガラクチュロン酸のメチルエステルが多数重合して高分子化しているペクチン、それらがカルシウムなどで架橋されて不溶性になっているペクチン、さらに、メチル基の含量の少い低エステル化度のペクチン、およびメチル基を含まないペクチン酸等がある。野菜の中にこれらのペクチン質がどの程度の割合で存在するかさえ、まだ不明である。しかし、これらのペクチン質は各種 pH 溶液中で加熱した場合、分解のしかたが異なるはずである。そして、野菜を各種 pH 溶液中で加熱したときの野菜の硬さに、

これらのペクチン質の分解のしかたが大きな影響を及ぼすことが考えられる。

これらの点を解明するために、メチル基含量の異なる三種類のペクチン質を pH 1~8 で長時間加熱し、分解のしかたにどのような違いがあるか、また、野菜を pH 1~8 の緩衝液中で加熱したときの野菜の硬さとペクチン質の溶出量の関係等について検討した結果を報告する。

### 実験方法

#### 1 実験材料

##### (1) ペクチン

市販柑橘ペクチンの 1% 水溶液に同量のエタノールを加え、生成するペクチンの沈殿を 50, 80, 99% のエタノール、つづいてエーテルで洗浄し、35℃で乾燥した。

##### (2) ペクチン酸

0℃の市販柑橘ペクチンの 1% 水溶液と同容量の 0.1 N カセイソーダを混合し、0℃に 90 分間放置してペクチンをケン化した。塩酸を加えてペクチン酸を沈殿させ、沈殿を 0.01 N 塩酸で数回洗浄した。この沈殿に 0.5 N NaOH を加えて溶かし、溶液の pH を約 6 にし、エタノールを同量加え、生成するペクチン酸ソーダの沈殿を 50, 80, 99% のエタノール、つづいてエーテルで洗浄して 35℃で乾燥した。<sup>4)</sup>

##### (3) ポリガラクチュロン酸メチルエステル

塩酸 2% を含む柑橘ペクチンの 2% 溶液を沸騰湯浴中で 2 時間加熱する。冷却後、酸不溶性ペクチン酸の沈殿を集め、塩酸酸性 (pH 約 2) の 40% エタノールで洗浄後、薄いカセイソーダに溶かし、カセイソーダの 0.05 N, 0℃ で 90 分間放置した。塩酸を加えて酸不溶性ペクチン酸を沈殿させ、塩酸酸性の 40% エタノールで洗浄後カセイソーダの薄い溶液に溶かしナトリウム塩としてエタノールで沈殿させ乾燥し、酸不溶性ペクチン酸を作った。この酸不溶性ペクチン酸

(2.8 g) を 81 g の 3.4% 塩酸メタノール溶液 (W/W) にけん觸し、75 °C でかくはんしながら 24 時間冷却器をつけて加熱し、さらに 18 g の 12.8% 塩酸メタノール溶液 (W/W) を加え合計 80 時間加熱した。沈殿をメタノールで洗い乾燥した。さらにこれを水に溶かしろ過、透析し、エタノールで沈殿させ、沈殿エタノールで洗浄し乾燥した。<sup>5)</sup>

#### (4) 野菜

市販の新鮮な青首だいこん、丸だいこん、かぶらの可食部の維管束の内部を直径 10 mm、厚さ 5 mm の円盤として用いた。

## 2 加熱方法

### (1) ベクチン、ベクチン酸およびポリガラクチュロン酸メチルエステル

25 ml の共栓試験管に 1% ベクチン溶液、ベクチン酸溶液またはポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液を 5 ml 取り、0.2 M 緩衝液 (pH 1 ~ 2, 酢酸塩) に 0.5 N 塩酸を加えて pH を調整；pH 3 ~ 5, 酢酸塩；pH 6 ~ 8, リン酸塩) を同量加え、冷却管をつけて沸騰湯浴中で 0.5, 1, 2, 5 時間加熱後急冷した。これらの溶液について pH, 還元糖、比粘度、チオバルビツール酸反応を測定した。

### (2) 野菜

25 ml の共栓試験管に pH 1 ~ 8 の 0.1 M 緩衝液 (前記と同じ方法で調製) を 10 ml 入れ、野菜の円盤を 5 g 加え、沸騰湯浴中で 15 分加熱後急冷し、円盤の破断力を測定した。煮汁については pH の測定ベクチン質の溶出量、チオバルビツール酸反応、メトキシルの定量を行った。

## 3 分析方法

### (1) 還元糖の定量

H. F. Launer ら<sup>6)</sup> および A. G. J. Voragen ら<sup>7)</sup> の亜塩素酸ソーダ法を行った。

即ち、栓付き褐色びんに 0.09 M 亜塩素酸ソーダ溶液 10 ml, 試料 10 ml, 5 M リン酸緩衝液 (pH 3.2) 30 ml を加え、50 °C ± 0.2 °C の湯浴中で 6 時間振とうさせた後、氷塩浴中に置く。先端 0.25 ~ 0.28 mm の毛細管を用いて、900 ml / 分の割合で 15 分間窒素ガスをバーリングさせる。ヨウ化カリウム 1 g (6 N 硫酸 35 ml 中に溶解させた新鮮なもの) を添加後、窒素ガスを 10 分間バーリングさせ、氷塩浴から出し 2 ~ 3 回振とう後 300 ml フラスコに移す。全量を約 75 ml とし、でんぶんを加え、0.05 N チオ硫酸ナトリウム溶液

で滴定した。標準曲線は 0 ~ 3 mg ガラクチュロン酸 / 10 ml を用いて作成した。

この定量法は酸性状態で定量できるため、定量中トランスエリミネーションによる分解を受けない。

### (2) 比粘度の測定

Ostwald の粘度計を用いて測定した。

### (3) チオバルビツール酸反応

トランスエリミネーションによってベクチンから生成するポリまたはオリゴガラクチュロニドの非還元性末端の 4, 5-不飽和ガラクチュロン酸単位をチオバルビツール酸反応によって定量した。岡本らの方法<sup>8)</sup> に従い、550 nm における吸光度を測定した。

### (4) 破断力の測定

カードメーター (飯尾電機製, M-301 A) を用いて測定した。

### (5) ベクチン質の定量

ベクチン、ベクチン酸、ポリガラクチュロン酸メチルエステルについては、前報<sup>9)</sup> と同様の Bitter ら<sup>10)</sup> のカルバゾール法で定量した。

野菜のベクチン質および煮汁中のベクチン質は J. T. Galambos<sup>11)</sup> のカルバゾール法により定量した。

すなわち、野菜中のベクチン質の定量は、野菜 5 g に 2% ヘキサメタリン酸ソーダ溶液 (リン酸で pH を 4.0 とした) を加えてホモジナイザーで磨碎し、2% ヘキサメタリン酸ソーダ溶液を追加し 50 g とし、90 °C 3.5 時間加熱抽出後グラスフィルターで済過し、済液を J. T. Galambos のカルバゾール法で定量した。

定量法：共栓試験管に試料 0.8 ml を取り、4 M スルファミン酸アンモニウム溶液 (スルファミン酸アンモニウム 60 g に水 100 ml 加える) 0.1 ml および、1 M ホウ酸緩衝液 (ホウ酸に水酸化カリウムを加えて pH 8.4 とする) 0.1 ml を加え混和した。次に、精密分析用濃硫酸 5 ml 加えよく混和した。(ここまで操作はすべて氷水中で行う。) これを 100 °C 6.5 分間加熱し、氷水中で冷却し、0.2 M カルバゾール溶液 (特級エタノール溶液) を 0.2 ml 加え、はげしく混和し、100 °C 10 分間加熱後空冷し、525 nm で吸光度を測定した。ガラクチュロン酸を用いて標準曲線を作成した。

この方法は発色に及ぼす中性糖の影響が少ないので、試料溶液中に中性糖が存在するときの定量法として有効である。

### (6) メトキシルの定量

L. G. Bartolome ら<sup>12)</sup> のガスクロマトグラフ法で定量した。

野菜 10 g に 1 M リン酸 2 カリウム溶液 (pH 7.4,

0～5°C)を10ml加え、あらかじめ冷しておいたブレンダー中で磨碎した。

内部標準として0.01～0.05% 1-プロパール溶液10mlを入れた60ml試験管に上記組織のまさいしたものあるいは煮汁を10ml加えた。これに0.25% EDTAを含む0.5Nカセイソーダ溶液を20ml加え、密栓をして少くとも30分間室温で振とう後、1mlを氷水中につけた小試験管にとり、亜硝酸溶液(冷5%亜硝酸カリウム溶液と7%リン酸溶液を同量混合して作る)5mlを加え、ゴムキャップをして氷水中に浸し、時々振とうした。約3分以後、1時間以内に再び振とうし、約0.5mlのガスをガスクロマトグラフに注入した。

用いた機種は柳本ガスクロマトグラフG 80で、0.3×200cmのガラス製カラムに15% Ucon Non-Polar L B 1715 (Chromosorb W, 60～70メッシュ)を詰め、50°Cで窒素ガスを60ml/分流し定量した。注入口温度は100°C、標準曲線は0.005% 1プロパノール溶液に0.001～0.05% (V/V) メタノール溶液を加えて作成した。

## 結果

### 1 ベクチン、ベクチン酸およびポリガラクチュロン酸メチルエステルの分解におよぼすpHの影響

0.5% ベクチン、ベクチン酸およびポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液を各種pHで加熱したときの分解率(生成する還元糖の増加より求めた)を図1～3に示した。

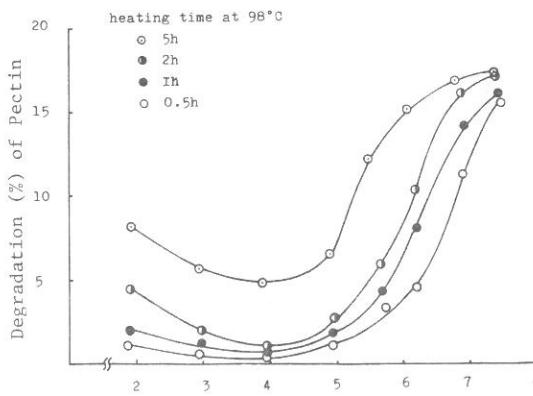


Fig. 1. Effect of pH on degradation of pectin in hot solution (98°C).

ベクチン溶液については、pH 4で最も分解しにくく、pHが上るに従って分解率が高くなり、中性溶液で加熱すると相当分解した。またpH 3, pH 2とpH

が下るに従って、わずかに分解率が増加した。加熱時間が長くなるに従って分解率も大きくなり、5時間加熱ではpH 4においても相当分解を起した。

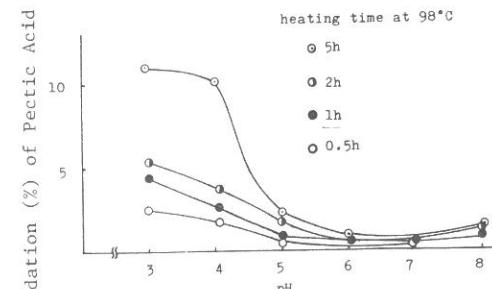


Fig. 2. Effect of pH on degradation of pectic acid in hot solution (98°C).

ベクチン酸溶液については、pH 5以上ではほとんど分解せず、pH 4, pH 3とpHが下るに従って分解率が大きくなった。5時間加熱するとpH 4以下では相当分解した。

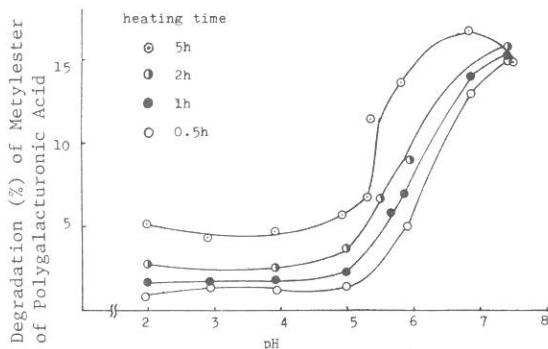


Fig. 3. Effect of pH on degradation of metylester of polygalacturonic acid in hot solution (98°C).

ポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液については、pH 6以上ではベクチン溶液の場合と同様に急激な分解率の増大が認められた。しかし、pH 4以下の分解率の増加は認められなかった。加熱時間延長による全体的分解率の増加は認められた。

これらの結果は、畠中の微量ヨウ素定量法<sup>13)</sup>によって求めた分解率<sup>14)</sup>とほとんど一致していた。

ベクチン溶液を加熱したときの比粘度を図4に示した。pH 4が最も粘度が高く、pHが上るに従って低下した。特にpH 6以上での粘度低下が著しく、低分子になっていることが判明した。また、pH 3, 2とpHが下るに従って粘度が低下した。加熱時間が長くなるほど粘度が低下し、より分解していることが認

められた。

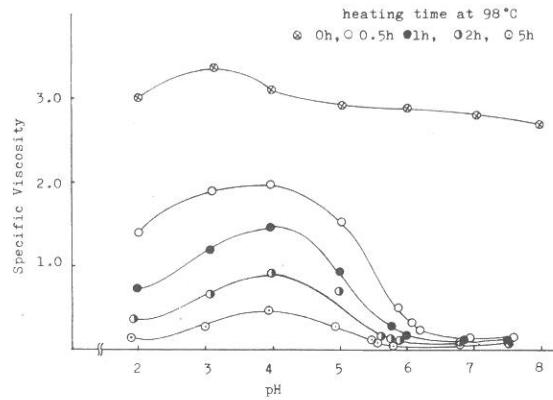


Fig. 4. Effect of pH on viscosity reduction of pectin solution at 98°C.

ペクチン酸溶液を5時間加熱した後の比粘度を図5に示した。pH 4以下の粘度低下が著しく、亜塩素酸ソーダ法による分解率の結果と一致した。

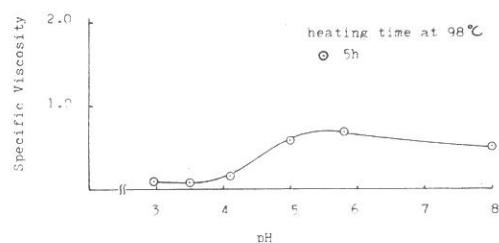


Fig. 5. Effect of pH on viscosity reduction of pectic acid solution at 98°C.

ペクチン、ペクチン酸およびポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液を加熱した後のチオバルビツール酸反応の結果を図6に示した。

pH 4以下ではメチル基の多少にかかわらず、いずれのペクチン質溶液もトランスエリミネーションを起さなかった。メチル基を持たないペクチン酸溶液は、pH 8でもトランスエリミネーションを起さず、メチル基を有するペクチン溶液は98°C 30分加熱でpH 6以上になると急速にトランスエリミネーションによる分解を起した。5時間加熱すると、pH 5においても分解を起し、メチル基を多く有するポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液の方がより強くトランスエリミネーションを起した。

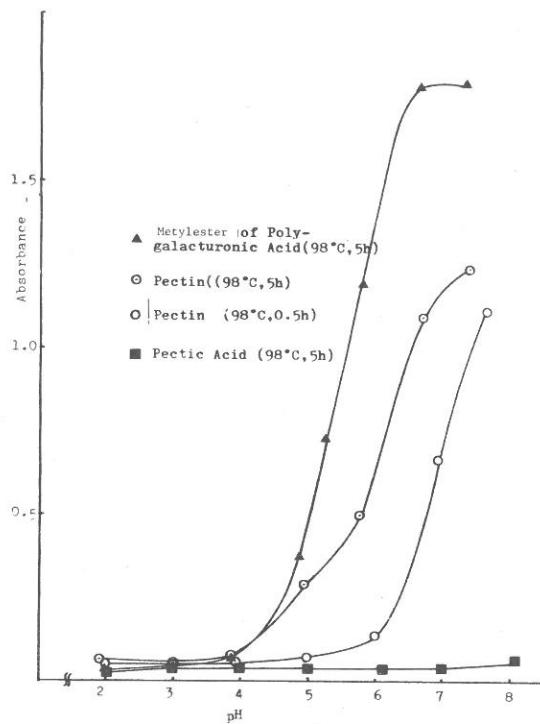


Fig. 6. Effect of pH on the  $\beta$ -elimination of Pectic substances at 98°C.

## 2 野菜の硬さに及ぼすpHの影響

青首だいこん、丸だいこん、かぶらの円盤をpH 1～8の0.1M緩衝液中で98°C 15分加熱したときの破断力を図7に示した。

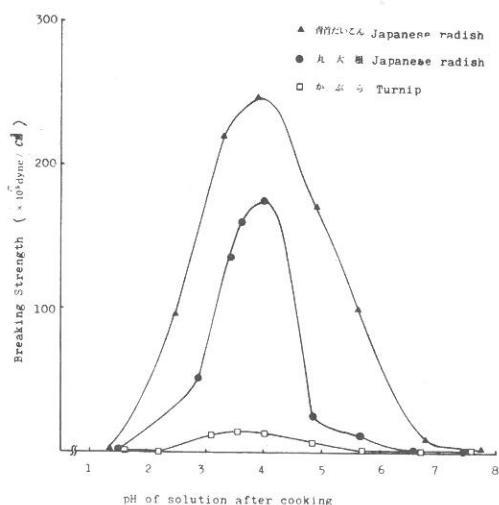


Fig. 7. Effect of pH on firmness of cooked vegetables.

いずれの野菜も pH 4 で最も硬く、pH が上るに従って急速に軟化した。特に中性溶液で 15 分加熱すると非常に軟らかくなかった。pH 3 以下でも軟化が認められ、pH 1.5 では相当軟化した。

また、野菜の種類によって、軟化の程度に大きな差が認められた。かぶらが最も軟化しやすく、ついで丸だいこん、だいこんの順であった。

次に、煮汁中のペクチン質の溶出率を丸だいこん、かぶらについて調べた結果を図 8 に示した。いずれも pH 4 付近での溶出量が最も低く、pH 6 以上になると

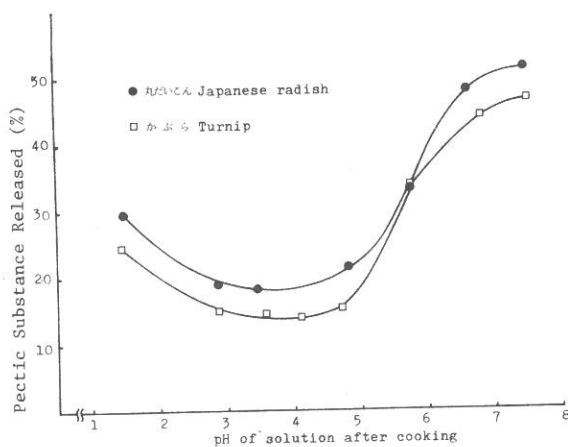


Fig. 8. Effect of pH on the amount of pectic substance released from vegetables.

と相当溶出し、中性溶液で 98 °C 15 分 加熱したとき約 50% 溶出した。pH 1.5においても溶出量が増加し、20~30% のペクチン質が溶出した。

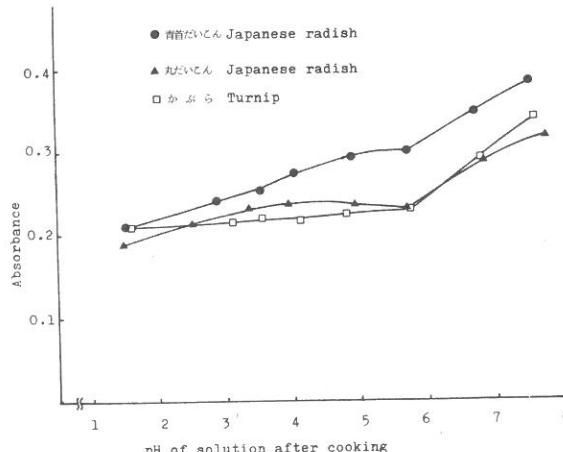


Fig. 9. Thiobalbituric acid reactions of supernatants of cooked vegetables.

野菜の煮汁についてチオバルビツール酸反応を調べた結果は図 9 の通りである。いずれの野菜も pH 6 以上でトランスエリミネーションによる分解が増大していた。

次に、かぶらと丸だいこんを 98 °C 15 分加熱したとき、ペクチン質のメトキシル基が煮汁中に出ていた割合を図 10 に示した。煮汁中の総メトキシル量は pH 4 で最も少なく、pH が上昇するほど多くなり、pH 7 ~ 8 では約 55 ~ 60% ケン化されていた。また強酸性でもメトキシル基の脱離が起り pH 1.6 で 20 ~ 30% 脱離が起っていた。

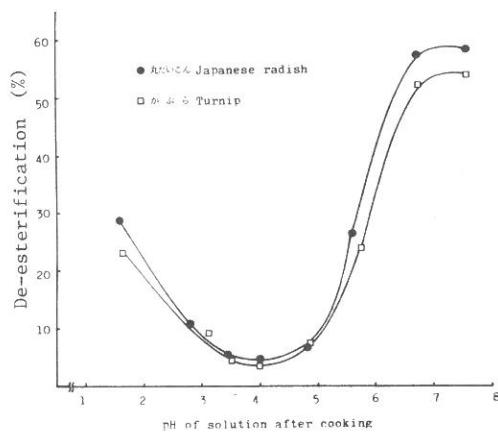


Fig. 10. De-esterification of pectic substance in vegetable tissues by cooking at varying pH.

## 考 察

メチル基含量の異なる三種類のペクチン質を pH 1 ~ 8 の緩衝液中で 98 °C 5 時間加熱したときの分解率を経時的に調べた。その結果、メチル基を有するペクチン溶液は pH 4 で最も分解しにくく、pH が上るに従って分解率が高くなかった。これはチオバルビツール酸反応の結果と一致しており、pH 5 以上でペクチン溶液を加熱するとトランスエリミネーションによって分解することがわかり、これらの結果は H. Neukom ら<sup>14)</sup> や P. Albersheim ら<sup>15)</sup>、後藤ら<sup>3)</sup> の結果と一致した。即ち、ペクチンの中性溶液を加熱すると加水分解ではなく、β-脱離によってグリコシッドが開裂する。すなわちエステルのカルボニル基の電子吸引効果が大きいため C-5 の水素が活性化され、β 位にあるグリコシッド結合が切れ、グリコシールアニオンを生じ、C-4 と C-5 の間に二重結合が生成する。

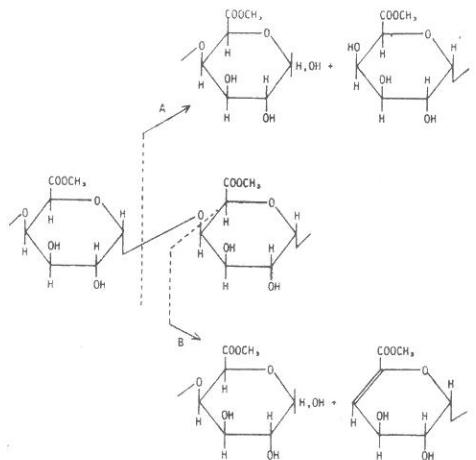


Fig 11. A: Hydrolysis, B: Transelimination

ペクチン溶液を pH 4 より低い pH で加熱したとき、トランスエリミネーションを起きないにもかかわらず分解率がわずかに増加するのは、加水分解によるものと考えられる。

ペクチン酸溶液（メチル基を含まない）は pH 5 以上ではほとんど分解せず、pH 4, 3 と pH が下るに従って分解率は大となった。ペクチン酸は 5 時間加熱してもトランスエリミネーションを起きないので、これは加水分解による分解と考えられる。ペクチン酸はカルボン酸イオンの電子吸引効果が小さいため、メチルエステル化したペクチンと異なり  $\beta$ -脱離（トランスエリミネーション）によるグリコシドの開裂がおきない。

メチル基含量の多いポリガラクチュロン酸メチルエステル溶液はペクチンと同様に pH 4 で最も分解しにくくアルカリ側になるほどよく分解した。トランスエリミネーションの程度はメチル基含量の多いほど大きいことがわかった。

次に、青首だいこん、丸だいこん、かぶらを pH 1 ~ 8 で 98 °C 15 分加熱したときのかたさと煮汁中へのペクチン質の溶出量について調べたところ、pH 4 で加熱したとき最も軟化が起りにくく、pH が上昇するに従って急激に軟化が起り、pH 3 以下でも相当軟化した。ペクチン質の煮汁中への溶出量および煮汁中の総メトキシル量は pH 4 で最も少なく、pH が上昇するに従って急激に増加した。また pH 3 以下でも増加した。

各種 pH で加熱したときの煮汁中のペクチン質の溶出曲線（図 8）とペクチンの分解率（図 1）がよく似

ており、軟化の程度とも一致している。このことから、野菜の軟化とペクチン質の分解、溶解は大きな関係があることがわかった。即ち、調理の際、野菜の軟化に関係する主要細胞壁物質はペクチン質であることが考えられる。

pH 5 以上で野菜を加熱したとき柔らかくなるのは野菜のペクチン質がトランスエリミネーションによる分解を受け、煮汁中に溶出するためである。

pH 3 以下で柔らかくなるのはペクチン質が加水分解を起して煮汁中に溶出されたためであると考えられる。野菜の細胞壁中ではペクチン質がカルシウムやマグネシウム等により架橋され巨大分子となり、不溶性になっており、硬さが固たれてている。強酸性（pH 2.5 以下）に野菜を浸すと加熱をしなくとも、カルシウム、マグネシウムが除かれるためにペクチン質が溶出する。この際加水分解は起らない。その為、pH 3 以下で野菜が軟化するのは、加水分解とともに、脱塩も影響していると考えられる。しかし、これらは通常の調理の pH 範囲を越える条件である。

pH 4 で野菜が軟化しにくいのは、トランスエリミネーションによる分解、加水分解、脱塩等が起りにくい pH であるため、ペクチン質の分解による溶出が起りにくいためであると考えられる。

## 要 約

野菜の軟化に及ぼす pH の影響をみるために、メチル基含量の異なるペクチン質を pH 1 ~ 8 の緩衝液中で 98 °C 加熱したときの分解のしかた、および野菜を pH 1 ~ 8 で加熱したときの軟化の程度とペクチン質の溶出量等の関係を検討した。

- メチル基を有するペクチンは pH 4 で最も分解しにくく、pH が上昇するに従ってトランスエリミネーションにより分解した。

メチル基を含まないペクチン酸は pH 5 以上では分解せず、pH 4 以下で加水分解により分解した。

- 野菜は pH 4 で最も軟化しにくく、pH 5 以上および pH 3 以下で急激に軟化した。

- 野菜のペクチン質の煮汁中への溶出率と、ペクチンの分解率が大体平行し、野菜の軟化とペクチン質の分解・溶解は大きな関係があることがわかった。

- 野菜が中性、アルカリ性で軟化するのは、ペクチンがトランスエリミネーションにより、強酸性で軟化するのはペクチンが加水分解および脱塩等により、分解し溶出するためである。

pH 4 で軟化しにくいのはペクチンの分解・溶出が起りにくいためである。

終りに、本実験に種々御助言をいただいた美作女子大学小沢潤二郎教授に謝意を表します。

## 文 献

- 1) J. C. Hughes, A. Grant, R. M. Faulks : Texture of Cooked Potatoes : the Effect of Ions and pH on the Compressive Strength of Cooked Potatoes, *J. Sci. Fd Agric.*, 26, 739-748 (1975)
- 2) C. Sterling : Effect of solutes and pH on the structure and firmness of cooked carrot, *J. Fd. Technol.*, 3, 367-371 (1968)
- 3) 後藤重芳, 河上敦子, 高祖美紀子: 調理による蔬菜のペクチン質の変化(第1報)  
中性または酸性で蔬菜を加熱調理したときのペクチン質の変化, *家政学雑誌*, 20, 235-238 (1969)
- 4) 畠中千歳, 小沢潤二郎: 酵素によるペクチン酸の分解(第4報) アルカリまたはペクチンエステラーゼでけん化してつくったペクチン酸に対するにんじんのエキソポリガラクチュロナーゼの作用, *農化*, 40, 421~428 (1966)
- 5) 小沢潤二郎: ペクチン質, 蛋白質核酸酵素, 15, 888-894 (1970)
- 6) H. F. Launer, Y. Tomimatsu : Reaction between Chlorous Acid and Glucose, Quantitative Stoichiometry and Evaluation of Reagent Decomposition, *Anal. Chem.*, 26, 382-386 (1954)
- 7) A. G. J. Voragen, F. M. Rombouts, M. J. Hoo donk, W. Pilnik : Comparison of Endgroup Methods for Measurement of Pectin Degradation, *Lebensm.-Wiss.u. Technol.*, 4, 7-11 (1971)
- 8) 岡本賢一, 畠中千歳, 小沢潤二郎: 4, 5-不飽和デガラクチュロン酸のチオバルビツール酸反応, *農学研究*, 50, 61-65 (1964)
- 9) 渕上倫子, 小西英子, 岡本賢一, 池田一子: 野菜の加熱調理に関する研究(第2報) 調理時における野菜の硬化現象について, *岡山県立短大研究紀要*, 21, 14~20 (1977)
- 10) T. Bitter, H. M. Muir : A Modified Uronic Acid Carbazole Reaction, *Anal. Biochem.* 4, 330-334 (1962)
- 11) J. T. Galambos : The Reaction of Carbazole with Carbohydrates, I. Effect of Borate and Sulfamate on the Carbazole Color of Sugars, *Anal. Biochem.*, 19, 119-132, (1967)
- 12) L. G. Bartolome, J. E. Hoff : Gas Chromatographic Methods for the Assay of Pectin Methylesterase, Free Methanol, and Methoxy Groups in Plant Tissues, *J. Agr. Food Chem.*, 20, 262-266 (1972)
- 13) 畠中千歳: ヨウ素滴定法による微量のアルドースの定量, *農化*, 41, 448~453 (1967)
- 14) 渕上倫子: 調理の際の野菜の軟化とペクチン質の変化(第1報) 酸性溶液中で加熱したときのペクチン質の分解, *栄養と食糧*へ投稿予定
- 14) H. Neukom, H. Deuel : Über den Abbau von Pektinstoffen bei alkalischer Reaktion, *Z. Schweiz. Forstv.*, 30, 223-235 (1960)

15) P. Albersheim, H. Neukom, H. Deuel : Splitting of Pectin Chain  
Molecules in Neutral Solutions, Arch. Biochem. Biophys. 90, 46-51 (1960)

Studies on Cooking of Vegetables (Part 5)

Effect of pH on the Maceration of Vegetables by Cooking.

Michiko Fuchigami

Effect of pH on maceration of vegetables and degradation of pectic substances were investigated at 98°C.

Pectin was broken down rapidly at neutral pH by transelimination. Enhanced softening of vegetables at low pH was ascribed to hydrolytic cleavage of glycosidic bonds of pectic substance. The enhanced maceration of vegetables at neutral pH was ascribed to the degradation of pectin by transelimination. At intermediate pH neither reaction would be expected to proceed at a significant rate. Therefore vegetable tissues were kept firm when cooked at pH4.

昭和57年3月31日受理