

ผลของนมและอินูลินที่มีต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติก

ณัฐธญาณ ศรีสุวอ^{1*}

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ เลขที่ 2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ
เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของนมและอินูลินที่มีต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติก โดยมีส่วนผสมของพุดดิ้งข้าวจำนวน 4 สูตร คือ นม น้ำ เติมนมและไม่เติมนมอินูลินลงในส่วนผสม และเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 หรือ *L. plantarum* TISTR 951 และวิเคราะห์หาสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติก ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณความชื้น ค่าความหนืดปรากฏ และค่าความคงตัว จากผลการทดลองพบว่า พุดดิ้งข้าวที่มีส่วนผสมของนมมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมากกว่ากรณีส่วนผสมที่เป็นน้ำ และพุดดิ้งข้าวเสริม TISTR 108 และ TISTR 951 ในส่วนผสมที่เป็นนมมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่ากรณีส่วนผสมที่เป็นน้ำ การเติมนมลงในส่วนผสมที่เป็นนมไม่เปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น ($p > 0.05$) แต่การเติมนมลงในส่วนผสมที่เป็นน้ำทำให้พุดดิ้งข้าวที่เติม TISTR 108 และ TISTR 951 มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น และพบว่าตัวอย่างที่เติมนมและไม่เติมนมเสริมด้วยจุลินทรีย์ TISTR 951 มีค่าความหนืดปรากฏสูงที่สุด อีกทั้งนมและอินูลินไม่ทำให้ค่าความคงตัวของพุดดิ้งเสริม TISTR 047 และ TISTR 108 เปลี่ยนแปลงอย่างไรก็ตาม นมและอินูลินช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ในพุดดิ้งข้าวให้มีจำนวนมากกว่า 8.82 log CFU ต่อกรัม ตลอดเวลาการเก็บรักษา 21 วัน

คำสำคัญ : พุดดิ้งข้าว / อินูลิน / โพรไบโอติก / สมบัติทางเคมีกายภาพ

* Corresponding Author : srisuvor@gmail.com

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์

Effects of Milk and Inulin on Physicochemical Properties of Rice Pudding Supplemented with Probiotic Cultures

Nutthaya Srisuvor^{1*}

Rajamangala University of Technology Krungthep, 2 Nang Linchi Road, Thung Maha Mek, Sathon, Bangkok 10120, Thailand.

Abstract

The objective of this research was to study the effect of milk and inulin addition on selected physicochemical properties of rice pudding supplemented with probiotic cultures. Four formula of rice pudding (with milk, water, with and without inulin) were investigated, either with or without the addition of *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 or *L. plantarum* TISTR 951. The physicochemical properties of probiotic rice pudding, i.e., total soluble solids, total solids, pH, total acidity, moisture content, apparent viscosity and consistency were analyzed. The results showed that the rice pudding with added milk had higher total soluble solids than that with added water. The samples with TISTR 108 and TISTR 951 strains in milk exhibited higher total acidity than those added with water. Addition of inulin into rice pudding with milk did not change the moisture content ($p > 0.05$) but the addition of inulin into the sample with water resulted in the samples with TISTR 108 and TISTR 951 having higher moisture content. Furthermore, the samples added with milk and without inulin and supplemented with TISTR 951 strains had the highest apparent viscosity. Milk and inulin did not change the consistency of the pudding with TISTR 047 and TISTR 108. However, milk and inulin promoted the survival of 3 species of probiotics in rice pudding, with the total probiotic content higher than $> 8.82 \log \text{CFU g}^{-1}$ during 21-day storage.

Keywords : Rice Pudding / Inulin / Probiotic / Physicochemical Properties

* Corresponding Author : srisuvor@gmail.com

Assistant Professor, Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Home Economics Technology.

1. บทนำ

พุดding มีลักษณะเป็นแป้งเหนียวข้น มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เป็นอาหารกึ่งของแข็ง [1] มีการเกิดเจลลาติไนเซชันของสตาร์ช (starch gelatinization) และกระจายตัวเป็นอนุภาคต่อเนื่องภายในส่วนผสมที่มีโปรตีนนมเป็นส่วนประกอบ [2] ซึ่งเป็นสมบัติของสตาร์ชที่เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ภายใน ให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีและความรู้สึกในปากที่นุ่มนวล [3] สำหรับอาหารเสริมโพรไบโอติก หมายถึงอาหารเสริมซึ่งมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกาย โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ [4] ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคร้ายในลำไส้ ช่วยป้องกันการเกิดโรคท้องร่วง ท้องผูก ริดสีดวงทวาร ช่วยให้ระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารดีขึ้น [5, 6, 7, 8, 9] ช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย [10, 11, 12]

ปัจจุบันอาหารเสริมโพรไบโอติกที่ไม่มีส่วนผสมของนมกำลังได้รับความนิยมอย่างมากโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จากธัญพืช มีรายงานพบว่าในข้าวมีซูโครส ฟรุกโตส และน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ [13] มีโปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็นแก่ร่างกาย มีใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งโอลิโกแซ็กคาไรด์ [14, 15] และพบรายงานการใช้ข้าวเป็นสับสเตรทสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. [16, 17] สำหรับอินูลินจัดเป็นพรีไบโอติกที่ประกอบด้วยโอลิโกแซ็กคาไรด์และพอลิแซ็กคาไรด์ที่หักกลืนรสที่นุ่มนวล สามารถละลายน้ำได้ปานกลาง และเกิดโครงสร้างร่างแหของเจล ให้ความหนืดต่ำ สามารถนำไปใช้เป็นสารทดแทนไขมัน และสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด ช่วยรักษาความชื้นของขนมปังและเค้ก ให้สด และเก็บไว้ได้นาน อาจใช้เป็นเส้นใยอาหารในเครื่องดื่มผลิตภัณฑ์นม และ table spread [18, 19] นอกจากนี้ อินูลินเป็นพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญและการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อลำไส้ ผลิตภัณฑ์ที่มีทั้งพรีไบโอติกและจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ร่วมกันอาจเรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotic) [19, 20]

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการใช้ข้าวเหนียวธัญลิน (ปรับปรุง

มาจากข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6) จากสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา โดยนำมาแปรรูปเป็นพุดdingข้าวเสริมโพรไบโอติกและใช้แป้งข้าว น้ำ และนมเป็นส่วนประกอบในการผลิตพุดdingข้าวให้มีความชื้นหนืดที่ดี และเติมอินูลินเป็นสารทดแทนไขมันและเป็นใยอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เมื่ออยู่ในส่วนผสมที่เป็นน้ำหรือของเหลวอื่นๆ จะเกิดโครงสร้างร่างแหของเจล [18, 19, 21] การเติมอินูลินร่วมกับนมทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์ (interaction) หรือสร้างพันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ขึ้นระหว่างอินูลินและโปรตีนนม [22] มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นหนืดและปริมาณของแข็งทั้งหมด (TSS) เพิ่มขึ้น [23] งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาผลของนมและอินูลินที่มีต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดdingข้าวเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 และการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

2. วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

2.1 วัตถุประสงค์และจุลินทรีย์

ข้าวเหนียวธัญลินจากสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จังหวัดลำปาง และจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 จากศูนย์จุลินทรีย์ วว. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

เพาะเลี้ยงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 ลงในอาหารเหลว *Lactobacilli* de Man Rogosa Sharpe (*Lactobacilli* MRS, Difco, USA) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและทำให้เย็น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจหาจำนวนโพรไบโอติกโดยวัดค่าความขุ่น (optical density) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS spectrophotometer, PG Instruments Limited, T80, Beijing, China) ที่

ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร [24] ทำ standard curve เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น เตรียมกล้าเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 9 log CFU ต่อ มิลลิลิตร นำไปหมუნเหวี่ยงด้วย เครื่องหมუნเหวี่ยง (Changsha Yingtai Centrifuge Instrument Co., Ltd., TGL20, Hunan, China) ที่ 3,000x g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยการหมუნเหวี่ยงด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น ร้อยละ 0.85 จำนวน 2 รอบ และเติมน้ำเกลือปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตสำหรับเติม ลงในผลิตภัณฑ์ โดยให้มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 7 log CFU ต่อกรัมตัวอย่าง

2.2.2 การผลิตพุดดิ่งข้าวเสริมโพรไบโอติก

เตรียมตัวอย่างพุดดิ่ง โดยนำข้าวเหนียวธัญสิริน มาบดด้วยเครื่องบดสับอาหาร (Moulinex, AT71R1F,

Paris, France) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 เมช ผสม กับส่วนประกอบอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 นำส่วนผสมให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์ (Heidolph Diex, 900, Kelheim, Germany) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที [25] ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเติมกล้าเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้ มีจำนวนเริ่มต้น 7 log CFU ต่อกรัม ลงในพุดดิ่งข้าว แต่ละสูตร ผสมให้เข้ากัน แบ่งใส่ถ้วยพลาสติกปริมาตร 50 มิลลิลิตร ป่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และเก็บเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์หาสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดดิ่งข้าวหลังการ ผลิต 1 วัน และการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระหว่าง การเก็บรักษา 21 วัน

ตารางที่ 1 สูตรการผลิตพุดดิ่งข้าว

ส่วนประกอบ (กรัม)	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
แป้งข้าวธัญสิริน	7.38	6.38	7.38	6.38
แป้งข้าวโพด	2.46	1.46	2.46	1.46
น้ำตาลฟรุคโตส	2.00	2.00	2.00	2.00
เกลือ	0.15	0.15	0.15	0.15
อินูลิน (Orafti® HP)	-	2.00	-	2.00
กลีคนวนิลา	0.05	0.05	0.05	0.05
น้ำ	-	-	87.96	87.96
นมคั้นรูปพร้อมมันเนย	87.96	87.96	-	-
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด	23.00 ± 0.71	23.80 ± 0.84	12.80 ± 1.59	12.20 ± 1.10

2.2.3 การวิเคราะห์หาสมบัติทางเคมีกายภาพ

วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) โดยใช้ hand-held refractometer (Atago, Master-M, Tokyo, Japan)

ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solids) [23] โดยใช้ตู้อบ ลมร้อน (Memmert, DO6062, Schwabach, Germany) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter, Shanghai San-Xin Instrumentation, Inc.,

MP 512, Shanghai, China) ปริมาณกรดทั้งหมด โดยวิธีการไทเตรต (titration method) ปริมาณความชื้น [26] ค่าความหนืดปรากฏ ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield digital viscometer, LVDV-II+P, Middleborough, MA, USA.) โดยให้หัว L4 ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และค่าความคงตัวที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยใช้ Bostwick consistometer, 600 ZX CON, Endecotts, UK

2.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($p \leq 0.05$)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลขององค์ประกอบของพุดdingข้าวเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีต่อ TSS แสดงในตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่า พุดdingสูตร 1 และ 2 เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีปริมาณ TSS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อาจเนื่องจากปริมาณ TSS เริ่มต้นใกล้เคียงกัน และเมื่อเก็บนาน 1 วัน ปริมาณ TSS ทั้ง 4 สูตรลดลงเล็กน้อย อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลในพุดdingข้าวเป็นแหล่งพลังงานและสร้างแอสติวิตี [17, 27] ปริมาณ TSS ในสูตร 1 และ 2 มากกว่าสูตร 3 และ 4 ซึ่งสอดคล้องกับตารางที่ 1 เนื่องจากสูตร 1 และ 2 มีนมพว่องมันเนยเป็นองค์ประกอบ ในขณะที่สูตร 3 และ 4 มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งนมพว่องมันเนยมีปริมาณ TSS มากกว่าน้ำ

ตารางที่ 2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของพุดdingข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	22.50 \pm 2.12 ^a	22.50 \pm 0.71 ^a	11.50 \pm 2.12 ^b	11.50 \pm 2.12 ^b
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	22.33 \pm 1.53 ^a	21.67 \pm 2.08 ^a	12.00 \pm 1.73 ^b	12.33 \pm 0.58 ^b
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	22.00 \pm 0.00 ^a	21.50 \pm 0.71 ^a	12.00 \pm 2.83 ^b	11.50 \pm 2.12 ^b

^{a, b} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณของแข็งทั้งหมดของพุดding ข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ พบว่า พุดding ข้าวเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* TISTR 047 และ *L. rhamnosus* TISTR 108 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) อาจเนื่องจากปริมาณของแข็งทั้งหมดในส่วนผสมทั้ง 4 สูตร ไม่แตกต่างกัน หรือจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ใช้สารอาหารและสร้างสารเมแทบอไลต์ในตัวอย่างได้ไม่แตกต่างกัน พุดding ข้าวที่เสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. plantarum* TISTR 951 ในสูตร 4 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องจากมีน้ำเป็นองค์ประกอบ หรือ *L. plantarum* TISTR 951 ใช้อินูลินในสารอาหารที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ในการเจริญได้ดีกว่าสูตรที่มีนมเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์

L. plantarum NCIMB 8826 เจริญในอาหารที่มีน้ำและแบ่งข้าวเป็นสับสเตรทได้สูงถึง 10 log CFU ต่อกรัม [17] ค่าความเป็นกรด-ด่างของพุดding ข้าวที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 4 พบว่า พุดding ข้าวที่เติม *L. rhamnosus* TISTR 108 มีค่าความเป็นกรด - ด่างไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) สูตร 3 และ 4 ที่เสริม *L. rhamnosus* TISTR 047 และ *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความเป็นกรด - ด่างมากกว่าสูตร 1 และ 2 อาจเนื่องจากสูตร 1 และ 2 มีนมพร้อมมันเนยเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจุลินทรีย์ใช้กาแลคโตสในนมโดยใช้เอนไซม์บีตา-กาแลคโตซิเดส (β -galactosidase) ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น และเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติกได้ [27] ดีกว่าสูตร 3 และ 4 ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดของพุดding ข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	24.38 ± 0.29 ^{ns}	23.30 ± 1.13 ^{ns}	22.36 ± 0.62 ^{ns}	22.80 ± 0.90 ^{ns}
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	20.47 ± 2.13 ^{ns}	23.05 ± 2.28 ^{ns}	22.78 ± 3.87 ^{ns}	16.94 ± 2.21 ^{ns}
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	22.26 ± 1.90 ^a	22.10 ± 2.95 ^a	19.72 ± 4.36 ^a	13.22 ± 2.21 ^b

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b} อักษรที่แตกต่างตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรด - ด่างของพุดดิ้งข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	3.26 ± 0.03 ^c	3.39 ± 0.01 ^b	4.02 ± 0.03 ^a	4.05 ± 0.02 ^a
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	3.27 ± 0.14 ^{ns}	3.34 ± 0.13 ^{ns}	3.79 ± 0.26 ^{ns}	3.80 ± 0.26 ^{ns}
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	3.28 ± 0.06 ^b	3.36 ± 0.02 ^b	3.91 ± 0.11 ^a	3.92 ± 0.09 ^a

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดแลคติก) ของพุดดิ้งข้าวเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ พบว่า พุดดิ้งข้าวเสริม *L. rhamnosus* TISTR 047 มีปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ถ้าเสริมด้วย *L. rhamnosus* TISTR 108 ในสูตร 1 ที่มีนมเป็นองค์ประกอบทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด แต่เมื่อเติมอินูลินร่วมกับนมในสูตร 2 มีปริมาณกรดลดลงจากสูตรที่ 1 อาจเนื่องจากการผลิตกรดแลคติกจากจุลินทรีย์สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ย่อยสลายกาแลคโตสในนม แต่เมื่อเติมอินูลินซึ่งมีกลูโคสหรือ

ฟรักโทส (F_m , GF_n) เป็นองค์ประกอบ และมีสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่เป็นแหล่งคาร์บอน ช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์และการรอดชีวิตของโพรไบโอติก [21, 28] การสร้างกรดแลคติกจึงน้อยลง นอกจากนี้พุดดิ้งข้าวที่เสริมด้วย *L. plantarum* TISTR 951 ในพุดดิ้งสูตร 1 และ 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าสูตร 3 และ 4 อาจเนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกในสูตร 1 และ 2 สามารถย่อยน้ำตาลกาแลคโตสในนมให้เปลี่ยนเป็นกรดแลคติก [28] ได้สูงกว่าสูตร 3 และ 4 ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดทั้งหมดของพุดดิ้งข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	0.78 ± 0.25 ^{ns}	0.69 ± 0.27 ^{ns}	0.19 ± 0.02 ^{ns}	0.14 ± 0.06 ^{ns}
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	0.94 ± 0.01 ^a	0.89 ± 0.01 ^b	0.16 ± 0.00 ^c	0.18 ± 0.01 ^c
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	0.90 ± 0.06 ^a	0.86 ± 0.50 ^a	0.20 ± 0.00 ^b	0.22 ± 0.07 ^b

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากผลของปริมาณความชื้นในพุดdingข้าวเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (ตารางที่ 6) พบว่า พุดdingข้าวที่เสริม *L. rhamnosus* TISTR 047 มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่พุดdingข้าวสูตร 4 เสริม *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 มีปริมาณความชื้นสูงที่สุด อาจเนื่องจากมีน้ำเป็นองค์ประกอบและมีการเติมอินูลินซึ่งเป็นสารที่สามารถละลายในน้ำได้

ทำให้ปริมาณ TSS เพิ่มขึ้น [23] และเกิดโครงสร้างร่างแหที่สามารถเก็บกักน้ำและความชื้นไว้ในผลิตภัณฑ์ [19] นอกจากนี้องค์ประกอบที่แตกต่างกันของพุดdingข้าว อาจมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ ส่งผลให้พุดdingข้าวมีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

ตารางที่ 6 ปริมาณความชื้นของพุดdingข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	75.63 ± 0.29 ^{ns}	76.70 ± 1.13 ^{ns}	77.65 ± 0.62 ^{ns}	77.21 ± 0.90 ^{ns}
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	79.53 ± 2.13 ^{ab}	76.95 ± 2.28 ^b	77.22 ± 3.87 ^c	83.06 ± 2.21 ^a
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	77.74 ± 3.22 ^b	77.90 ± 2.95 ^b	80.29 ± 4.36 ^b	86.78 ± 2.21 ^a

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าความหนืดปรากฏของพุดdingข้าวจำนวน 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 7 จากผลการทดลองพบว่า พุดdingเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* TISTR 047 และ *L. rhamnosus* TISTR 108 มีค่าความหนืดปรากฏไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่พุดdingเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. plantarum* TISTR 951 ในสูตร 1 และ 4 มีค่าความหนืดปรากฏสูงและต่ำที่สุดตามลำดับ เนื่องจากสูตร 1 มีนมเป็นองค์ประกอบ และสูตร 4 มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งนมมีค่าความหนืดปรากฏ

สูงกว่าน้ำ และสูตร 4 แม้จะมีการเติมอินูลินในปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ไม่ช่วยทำให้ค่าความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสูตร 4 มีค่า TSS และปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำกว่าสูตรอื่นๆ ในทางตรงกันข้ามพุดdingข้าวสูตร 1 ที่เสริม *L. plantarum* TISTR 951 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติกในนม อาจผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) ที่ทำให้สูตร 1 มีค่าความหนืดปรากฏสูงที่สุด [29, 30, 31]

ตารางที่ 7 ค่าความหนืดปรากฏของพุดดิ้งข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ค่าความหนืดปรากฏ (เซนติพอยส์)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	3,697.12 ± 675.19 ^{ns}	1,470.72 ± 303.42 ^{ns}	1,482.36 ± 215.24 ^{ns}	565.67 ± 204.47 ^{ns}
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	3,353.54 ± 413.62 ^{ns}	1,717.33 ± 293.58 ^{ns}	3,104.48 ± 725.18 ^{ns}	2,323.55 ± 248.08 ^{ns}
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	5,151.66 ± 127.26 ^a	1,920.28 ± 11.47 ^b	1,737.27 ± 94.32 ^b	726.33 ± 10.72 ^c

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 แสดงค่าความคงตัวของพุดดิ้งข้าวที่เสริมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ พบว่า พุดดิ้งข้าวที่เสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* TISTR 047 และ *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความคงตัวไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่พุดดิ้งที่เสริม *L. rhamnosus* TISTR 108 มีค่าความคงตัวเรียงลำดับจากน้อยที่สุดไปมากที่สุด คือ สูตร 4 2 3 และ 1 ตามลำดับ เนื่องจากสูตร 4 มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จึงทำให้ตัวอย่างพุดดิ้งมีความคงตัวน้อยกว่าสูตรที่เติมนม แม้ว่าจะมีการเติมอินูลินในสูตร 4 ก็ตาม แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มค่าความคงตัวของพุดดิ้งข้าว อาจเป็นเพราะปริมาณอินูลินที่เพิ่มขึ้น ทำให้โครงสร้างร่างแหของการเกิดเจลไม่แข็งแรง หรือเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนหรืออิเล็กโตรสแตติกระหว่างโปรตีนและโมเลกุลของน้ำที่

อ่อนแอ [22] หรือสูตร 4 มีปริมาณ TSS น้อยเกินไป ในทางตรงกันข้ามพุดดิ้งข้าวสูตร 1 มีค่าความคงตัวมากที่สุด อาจเนื่องจากมีนมเป็นองค์ประกอบ และมีปริมาณ TSS ค่อนข้างสูง การเติมอินูลินในสูตร 2 ที่มีนมเป็นองค์ประกอบ ทำให้ค่าความคงตัวลดลง อาจเนื่องจากปริมาณอินูลินส่งผลให้เกิดการขัดขวางโครงสร้างร่างแหของการเกิดเจล หรือเกิดการสร้างพันธะระหว่างโปรตีนกับโมเลกุลของน้ำที่ไม่แข็งแรง [22] หรือการเติมอินูลินเพิ่มขึ้น อาจช่วยเพิ่มการดูดซับน้ำในผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น [23] จึงทำให้สูตร 2 มีค่าความคงตัวน้อยกว่าสูตร 1 ที่ไม่เติมอินูลิน และน้อยกว่าสูตร 3 ซึ่งมีน้ำและไม่เติมอินูลินเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 8 ค่าความคงตัวของพุดดิ้งข้าว 4 สูตร ที่เติมโพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ค่าความคงตัว (เซนติเมตรต่อนาที)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 047	23.61 ± 4.65 ^{ns}	26.95 ± 7.85 ^{ns}	26.15 ± 4.17 ^{ns}	32.25 ± 5.08 ^{ns}
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> TISTR 108	31.13 ± 0.95 ^d	36.32 ± 0.03 ^b	32.99 ± 0.69 ^c	40.28 ± 0.31 ^a
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 951	25.36 ± 2.46 ^{ns}	30.73 ± 5.33 ^{ns}	29.67 ± 4.99 ^{ns}	37.42 ± 7.33 ^{ns}

^{ns} แนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b, c} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การตรวจติดตามการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 ในพุดดิ้งข้าวทั้ง 4 สูตร ในระหว่างการเก็บรักษา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า นมและอินูลินส่งผลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ในปริมาณมากกว่า 8.82 log CFU ต่อกรัม ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ [32] มีการศึกษาการรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* TISTR 047 *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 ในข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนาหุงสุก พบจำนวน *L. rhamnosus* TISTR 047 รอดชีวิตในข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนาหุงสุก 7.63 และ 7.75 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน [33] บ่งชี้ว่าข้าวธัญลิรินหุงสุกน่าจะมีสารอาหารที่ช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่ใช้ข้าวธัญลิรินในการผลิตพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติก

4. สรุปผลการทดลอง

องค์ประกอบของพุดดิ้งข้าวที่แตกต่างกัน ได้แก่ นม น้ำ และอินูลินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TSS ปริมาณของแข็งทั้งหมด ค่าความเป็นกรด - ต่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณความชื้น ค่าความหนืดปรากฏ และ

ค่าความคงตัวของผลิตภัณฑ์ และช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของโพรไบโอติกให้อยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ สามารถนำไปพัฒนาเป็นพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติกที่ไม่ใช้นมให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งด้านรสชาติ และการรอดชีวิตของโพรไบโอติกตลอดอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา และขอขอบคุณผู้จัดการบริษัท ดีพีโอ (ไทยแลนด์) และบริษัท ทินกรเคมิคอล แอนด์ ซัพพลาย จำกัด ที่อนุเคราะห์อินูลิน (Orafti®HP) และน้ำตาลฟรุคโตส (food grade) สำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

1. Lim, H.S. and Narsimhan, G., 2006, "Pasting and Rheological Behavior of Soy Protein-based Pudding," *LWT-Food Science and Technology*, 39 (4), pp. 344-350.
2. Doublier, J.L. and Durand, S., 2008, "A Rheological Characterization of Semi-solid Dairy Systems," *Food Chemistry*, 108 (4), pp. 1169-1175.
3. Verbeken, D., Bael, K., Thas, O. and Dewettinck, K., 2006, "Interactions between k-carrageenan,

- Milk Proteins and Modified Starch in Sterilized Dairy Desserts,” *International Dairy Journal*, 16 (5), pp. 482-488.
4. Fuller, R., 1989, “Probiotics in Man and Animals,” *Journal of Applied Bacteriology*, 66 (5), pp. 365-378.
 5. Saarela, J.S., 2000, “Probiotics and Infectious Diarrhea,” *The American Journal of Gastroenterology*, 95 (1Suppl), pp. S16-S18.
 6. Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J. and Mattila-Sandholm, T., 2000, “Probiotic Bacteria : Safety, Functional and Technological Properties,” *Journal of Biotechnology*, 84 (3), pp. 197-215.
 7. Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R. and Boccio, J., 2001, “Effect of Probiotics and Functional Foods and their use in Different Diseases,” *Nutrition Research*, 21 (3), pp. 569-579.
 8. Gibson, G.R., 2004, “Fibre and Effects on Probiotics (The Prebiotic Concept),” *Clinical Nutrition Supplements*, 1 (2), pp. 25-31.
 9. Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Pavunc, A.L., Habjanić, K. and Matošić, S., 2010, “Antimicrobial Activity - The most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria,” *Food Technology and Biotechnology*, 48 (3), pp. 296-307.
 10. Brady, L.J., Gallaher, D.D. and Busta, F.F., 2000, “The Role of Probiotic Cultures in the Prevention of Colon Cancer,” *The Journal of Nutrition*, 130 (2S Suppl), pp. 410S - 414S.
 11. Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G. and Gobbato, N., 1995, “Immune System Stimulation by Probiotics,” *Journal of Dairy Science*, 78 (7), pp. 1597-1606.
 12. Boge, T., Rémygy, M., Vaudaine, S., Tanguy, J., Bourdet-Sicard, R. and van der Werf, S., 2009, “A Probiotic Fermented Dairy Drink Improves Antibody Response to Influenza Vaccination in the Elderly in Two Randomized Controlled Trials,” *Vaccine*, 27 (41), pp. 5677-5684.
 13. Yang, Y., Rao, Y., Xu, J., Shao, G., Leng, Y., Huang, L., Wang, L., Dai, L., Zhang, G., Hu, J., Zhu, L., Li, C., Gao, Z., Guo, L., Qian, Q. and Zeng, D., 2014, “Genetic Analysis of Sugar-related Traits in Rice Grain,” *South African Journal of Botany*, 93, pp. 137-141.
 14. Arendt, E.K. and Zannini, E., 2013, *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*, Woodhead, Oxford.
 15. Katsuta, K., Nishimura, A. and Miura, M., 1992, “Effects of Saccharides on Stabilities of Rice Starch Gels. 2. Oligosaccharides,” *Food Hydrocolloids*, 6 (4), pp. 399-408.
 16. Helland, M.H., Wicklund, T. and Narvhus, J.A., 2004, “Growth and Metabolism of Selected Strains of Probiotic Bacteria in Milk- and Water-Based Cereal Puddings,” *International Dairy Journal*, 14 (11), pp. 957-965.
 17. Saman, P., Fucinos, P., Vilzquez, J.A. and Pandiella, S.S., 2011, “Fermentability of Brown Rice and Rice Bran for Growth of Human *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826,” *Food Technology and Biotechnology*, 49 (1), pp. 128-132.
 18. De Leenheer, L., 1996, “Production and use of Inulin : Industrial Reality with a Promising Future,” in H. Van Bakkum, H. Röper and A.G.C. Voragen, (Eds.) *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*, VCH, New York, pp. 67-92.
 19. Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 2008, *Handbook of Prebiotics*, CRC Press, Boca Raton.
 20. Ziemer, C.J. and Gibson, G.R., 1998, “An Overview of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Functional Food Concept : Perspectives and Future Strategies,” *International Dairy Journal*, 8 (5-6), pp. 473- 479.

21. Roberfroid, M.B., 2006, "Inulin-type Fructans : Functional Food Ingredients," *Trends in Food Science and Technology*, 17 (1), pp. 39-41.
22. Glibowski, P., 2009, "Rheological Properties and Structure of Inulin-whey Protein Gels," *International Dairy Journal*, 19 (8), pp. 443-449.
23. Debon, J., Prudêncio, E.S. and Petrus, J.C.C., 2010, "Rheological and Physico-chemical Characterization of Prebiotic Microfiltered Fermented Milk," *Journal of Food Engineering*, 99 (2), pp. 128-135.
24. Huebner, J., Wehling, R.L., Parkhurst, A. and Hutkins, R.W., 2008, "Effect of Processing Conditions on the Prebiotic Activity of Commercial Prebiotics," *International Dairy Journal*, 18 (3), pp. 287-293.
25. Kpodo, F.M.K., Afoakwa, E. O., Amoa, B.B., Budu, A.S. and Saalia, F.K., 2014, Effect of Ingredient Variation on Microbial Acidification, Susceptibility to Syneresis, Water Holding Capacity and Viscosity of Soy-peanut-cow Milk Yoghurt," *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 1 (2), pp. 1-6.
26. AOAC., 2005, "Official Methods of Analysis of AOAC International," 18th ed., AOAC International, Gaithersburg, Maryland.
27. Matijević, B., Lisak, K., Božanić, R. and Tratnik, L., 2011, "Impact of Enzymatic Hydrolyzed Lactose on Fermentation and Growth of Probiotic Bacteria in Whey," *Mljekarstvo*, 61 (2), pp. 154-160.
28. Roberfroid, M.B., 1999, "Concepts in Functional Foods : The Case of Inulin and Oligofructose," *The Journal of Nutrition*, 129 (7 Suppl), pp. 1398S-1401S.
29. Cerning, J., 1990, "Exocellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria," *FEMS Microbiology Letters*, 87 (1-2), pp. 113-130.
30. Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M. and Desmazeaud, M., 1992, "Isolation and Characterization of Exopolysaccharides from Slime-forming Mesophilic Lactic Acid Bacteria," *Journal of Dairy Science*, 75 (3), pp. 692-699.
31. Degeest, B., Vaningelgem, F. and De Vuyst, L., 2001, "Microbioal Physiology, Fermentation Kinetics and Process Engineering of Heteropolysaccharide Production by Lactic Acid Bacteria," *International Dairy Journal*, 11 (9), pp. 747-757.
32. Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B.C., 2001, "Review : Yogurt as Probiotic Carrier Food," *International Dairy Journal*, 11 (1-2), pp. 1-17.
33. Srisuvor, N., 2016, "Use of Cooked Rice (*Oryza sativa* L.) of Indigenous Cultivars as Food Matrices for Probiotics," *KMUTT Research and Development Journal*, 39 (1), pp. 56-65. (In Thai)