

ผลของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารที่มีปลาปนระดับต่ำต่อการเจริญเติบโต และ
ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ

(*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

Effects of monosodium phosphate in low fish meal-based diet on growth performance and
phosphorus utilization for sex-reversed red tilapia

(*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

วุฒิพร พรหมขุนทอง¹ อนุรักษ์ เขียวจระเข้² และ กิจการ ศุภมาตย์¹

¹Ph.D.รองศาสตราจารย์ ²วท.ม. (วาริชศาสตร์) ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112 Email address: wutipomp@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของโมโนโซเดียมฟอสเฟต $\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ ในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยแบ่งการทดลองเป็น 7 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ โดยใช้ปลาขนาดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นประมาณ 12 กรัม/ตัว จำนวน 20 ตัว/ซ้ำ ให้อาหารทดลองวันละ 2 มื้อ ระยะเวลาในการทดลอง 10 สัปดาห์ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน และพลังงานใกล้เคียงกันดังต่อไปนี้ สูตรที่ 1 ปลาปน 20 เปอร์เซ็นต์และมีฟอสฟอรัสรวม (total Phosphorus: TP) 0.99 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus: AvP) 0.62 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในสูตรที่ 2-7 มีปลาปน 3 เปอร์เซ็นต์ และเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตจำนวน 6 ระดับคือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (TP มีค่าระหว่าง 0.69-1.19 และ AvP มีค่าระหว่าง 0.32-0.62) จากการทดลองพบว่า เมื่อปลาได้รับอาหารที่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ระดับของฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง กระดูกปิดเหงือก และกล้ามเนื้อในกระดูกสันหลัง เถ้าในกระดูกปิดเหงือก และฟอสฟอรัสในซีรัมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่กิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนองค์ประกอบของไขมันในซากปลาทั้งตัว และไขมันในเครื่องในรวมมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่โปรตีนในซากปลาทั้งตัวมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการทดลองทำให้ทราบว่าปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.57% และ TP =1.13%) เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในปลานิลแดงแปลงเพศ ทั้งนี้พิจารณาได้จากการเจริญเติบโต, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (percent weight gain), อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate), ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio), โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (protein productive value), ไขมันในซากปลาทั้งตัว, ฟอสฟอรัส, ในซากปลาทั้งตัว, ฟอสฟอรัสในซีรัม และในกระดูกสันหลัง

คำสำคัญ: โมโนโซเดียมฟอสเฟต ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัส, อนินทรีย์ฟอสเฟต, ปลานิล

Abstract

The study of an effect of monosodium phosphate ($\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$) in sex-reversed red tilapia was conducted in 7 treatments with 3 replications each. Fingerlings with initial weight about 12 g are stocked in glass tanks with 20 fish/replication. Feeds were given in 2 rations daily for 10 weeks period. Each feed formula was formulated to contain nearly the same levels of protein and energy as follow: formulae 1 contained 20% fishmeal in diet and 0.99 % total phosphorus (TP) and 0.62% available phosphorus (AvP). Formulae 2 to 7 were with 3% fish meal and fortified inorganic phosphate from monosodium phosphate (MSP) at 6 levels, i.e., 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 %, respectively. (0.69 -1.19 TP and 0.32-0.62 AvP). Results shown that with increased dietary MSP levels, contents of phosphorus in vertebrae, operculum and fin let, ash in vertebrae, operculum and serum phosphorus increased significantly; while alkaline phosphatase activity were not different significantly among treatments. Fat composition in carcass and in viscera were steadily decreased. While protein levels in carcass increased significantly. The treatment with 0.4% MSP (1.13% TP and 0.57% AvP) Shown highest percent weight gain, specific growth rate, protein efficiency ratio, protein productive value, fat and phosphorus in fish carcass, phosphorus in serum and vertebrae phosphorus. Hence the feed with 0.4% fortified MSP (0.57%AvP) is optimum and sufficient for the growth of sex-reversed red tilapia.

Key words: monosodium phosphate, phosphorus utilization

บทนำ

ฟอสฟอรัสจัดได้ว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญสำหรับปลา เนื่องจากมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต ในกระบวนการสร้างกระดูก (bone mineralization) นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อการสร้างพลังงานภายในเซลล์ การคัดลอกรหัสทางพันธุกรรม (genetic coding) และมีความสำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของ สารอาหารที่ให้พลังงาน (Lovell, 1989) ปลาสามารถรับฟอสฟอรัสได้จากอาหารในปริมาณมากกว่าการดูดซึม จากน้ำ ดังนั้นส่วนประกอบในอาหารปลาจึงถือได้ว่ามีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการนำสารอาหารต่างๆไปใช้ ประโยชน์โดยเฉพาะ ปลาป่นที่ถือได้ว่าเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน อย่างไรก็ตามพบว่า ฟอสฟอรัสที่เป็นองค์ประกอบหลักในปลาป่นส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปที่ปลาไม่สามารถนำมาใช้ได้ทั้งหมด และมี ราคาแพง ปัจจุบันจึงนิยมนำวัตถุดิบพืชมาใช้ทดแทน อย่างไรก็ตามกลับพบว่าการใช้วัตถุดิบพืชในปริมาณ มากก็มีผลต่อการนำแร่ธาตุต่างๆ ที่มีอยู่ในวัตถุดิบพืชซึ่งรวมถึงการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ด้วย เช่นเดียวกัน เนื่องจากวัตถุดิบพืชมีกรดไฟติก (phytic) ประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณฟอสฟอรัสที่มี ทั้งหมด (Francis *et al.*, 2001) ทำให้ปลาไม่สามารถนำแร่ธาตุต่างๆ รวมถึงฟอสฟอรัสมาใช้ประโยชน์ได้ ทั้งหมด เนื่องจากปลาไม่มีเอนไซม์ไฟเตส (phytase) ที่ช่วยในการย่อยกรดไฟติก (Chung, 2002) โดยทั่วไป ฟอสฟอรัสที่นำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำพบได้ 3 รูปแบบคือ โมโนเบสิก (monobasic), ไดเบสิก (dibasic) และ ไตรเบสิก (tribasic) โดยอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปโมโนเบสิกปลาสามารถนำเอาไปใช้ได้ดีที่สุด (Mgbenka,

2005) Nordrum และคณะ (1997) พบว่าอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปแบบโมโนโซเดียมฟอสเฟตเป็นรูปแบบที่มีการสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลา (phosphorus retention) ได้มากกว่ารูปแบบอื่นๆ ถึง 131 เปอร์เซ็นต์ ความต้องการฟอสฟอรัสในปลาจะแตกต่างกันออกไปตามชนิด ขนาด อายุ เช่น ปลานิล (*O. niloticus*) ต้องการฟอสฟอรัส 0.4, 0.9, 0.45-0.6, 0.3-0.5, 0.4 เปอร์เซ็นต์ (Haylor *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1980; Viola and Arieli, 1983; Robinson *et al.*, 1987; Lovell, 1988) ลูกปลาแฮตดอกขนาดปลานิลมีความต้องการฟอสฟอรัส 0.72 เปอร์เซ็นต์ (Roy and Lall, 2003) ลูกปลากดหลวง วัยอ่อน 0.2 เปอร์เซ็นต์ (Lovell, 1978) ปลาไน 1.2 เปอร์เซ็นต์ (Kim *et al.*, 1998) ปลาดุกอเมริกันพันธุ์ผสม 0.6 เปอร์เซ็นต์ (Mgbenka and Ugwu, 2005) ปลาเรดครัม 0.86 เปอร์เซ็นต์ (Davis and Robinson, 1987) ปลากะพงขาว 0.55 เปอร์เซ็นต์ (มะลิ และ จุอะดี, 2533) ปลานิลแดงแปลงเพศที่รับประทานอาหารที่มีวัตถุดิบพืชทั้งหมด มีความต้องการฟอสฟอรัส 0.76 เปอร์เซ็นต์ (Phromkonthong and Udom, 2007) ปลานวลจันทร์ทะเล และปลาเรนโบว์ เทราท์ 0.8 เปอร์เซ็นต์ (Borlongan และ satho, 2001; Coloso *et al.*, 2003) ทั้งนี้ฟอสฟอรัสที่เหลือในรูปของอาหารจากการกินหรือที่เหลือจากกระบวนการย่อย จะถูกขับออกในรูปของมูลลงสู่แหล่งน้ำ (Weerasinghe *et al.*, 2001) จากรายงานของ NRC (1993) พบว่าใน ปี 1993 ที่ผ่านมามีการใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากถึง 345,000 เมตริกตัน ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟอรัสทั้งหมด 4,100 เมตริกตัน โดย 1,400 เมตริกตันสะสมในเนื้อสัตว์น้ำ ส่วนที่เหลือถูกขับลงสู่แหล่งน้ำ เมื่อมูลปลาที่ถูกขับถ่ายออกแล้วอยู่ละลายลงสู่แหล่งน้ำแล้วก็จะมีผลต่อปริมาณสารอาหารที่เพิ่มมากขึ้นในแหล่งน้ำ สิ่งเหล่านี้ถือเป็นปัจจัยจำกัดสำหรับการเจริญเติบโตของแพลงก์พืช จึงก่อให้เกิดปรากฏการณ์สีเขียวของแพลงก์ตอนพืช หรือ ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Lee, 1973)

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมของอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปแบบโมโนโซเดียมในอาหารที่มีปลาปนระดับต่ำ โดยสามารถบอกถึงระดับความต้องการฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ และช่วยลดสภาวะการขับถ่ายฟอสฟอรัสส่วนเกินลงสู่แหล่งน้ำได้

วิธีการทดลอง

อาหารทดสอบมีจำนวนทั้งหมด 7 สูตร คือ อาหารสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) เป็นสูตรอาหารที่ไม่มีการเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟต โดยให้มีแหล่งของฟอสฟอรัสจากปลาปน 20 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.21; TP=0.98) อาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารที่มีปลาปนระดับต่ำ และไม่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟต (AvP=0.14; TP=0.70) สำหรับสูตรที่ 3-7 กำหนดให้เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของโมโนโซเดียมฟอสเฟต ($\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$) จากบริษัท Ajax Finechem จำนวน 5 ระดับคือ 0.48, 0.97, 1.45, 1.93 และ 2.41 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม ซึ่งมีฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (AvP) เท่ากับ 0.21, 0.14, 0.30, 0.42, 0.48, 0.57 และ 0.62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และกำหนดให้อาหารทุกสูตรอาหารมีสารอาหารในระดับที่ใกล้เคียงกันคือ มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 3,400 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (Phromkonthong and Udom, 2007) นำวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ดังตารางที่ 1) ตามวิธีการของ AOAC (1990) เพื่อสร้างสูตรอาหารทดลอง นำอาหารที่เตรียมแล้วไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารในการทดลอง (% บนฐานของวัตถุแห้ง)¹

ชนิดวัตถุดิบ	องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารทดลอง						
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	NFE ²
ปลาป่น	8.69±0.08	67.56±1.72	7.54±0.48	20.60±0.05	0.16±0.13	2.18±0.07	0.45±0.08
ถั่วเหลืองป่น	6.21±0.04	45.69±1.57	0.73±0.09	6.23±0.04	5.51±0.08	0.56±0.12	35.63±0.12
รำ	6.17±0.03	12.52±0.96	15.71±0.68	8.59±0.16	2.67±0.37	1.78±0.01	54.34±0.45
ปลายข้าวหัก	8.67±0.06	10.39±1.45	1.63±0.02	1.82±0.02	0.42±0.06	0.20	77.07±0.44
Na(H ₂ PO ₄) ₂ ·2(H ₂ O)	-	-	-	-	-	20.67±2.54	-

¹ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²NEF คือ Nitrogen free extract

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1 ตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรม และการสังเกตลักษณะภายนอกในทุกชุดการทดลองซึ่งได้แก่ การว่ายน้ำ การคดงอของครีบ และ กระดุก การตกเลือด บาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ

3.2 ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาและนับจำนวนปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อคำนวณการเจริญเติบโต เช่น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอดตาย (survival rate) (Jantrarotia *et al.*, 1994)

3.3 องค์ประกอบทางเคมีของปลาและประสิทธิภาพการให้อาหาร

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนและหลังการทดลอง นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (AOAC, 1990) เพื่อนำไปคำนวณประสิทธิภาพการให้โปรตีน (PER) (Zeitoun *et al.*, 1973) โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV) (Robinson and Wilson, 1985) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FRC) (Dupree and Sneed, 1966)

3.4 ศึกษาการให้ประโยชน์จากฟอสฟอรัส

3.4.1 สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส

สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสทำได้โดยการใช้โครมิกออกไซด์ (Cr₂O₃) ซึ่งเป็นสารบ่งชี้เติมลงในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร จากนั้นเริ่มเก็บมูลที่มีโครมิกออกไซด์หลังจากให้อาหารผสมโครมิกออกไซด์แล้วเป็นเวลา 4 วัน โดยเก็บหลังจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำ หรือหลังจากให้อาหารในเวลา 16.00 นาฬิกาเป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง ด้วยวิธีการรีด (strip) บริเวณท้องจนถึงทวารหนัก ใช้ปากคีบ (forecep) รวบรวมมูลที่ได้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเมือก และของเหลวที่ออกในระหว่างการรีด แล้วรวบรวม (pool) มูลและเก็บไว้ที่

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของวัตถุดิบคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง (% บนฐานของวัตถุแห้ง¹)

วัตถุดิบ/อาหาร ทดลอง	ส่วนประกอบในอาหารทดลอง/ฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ (%)						
	T1/0.21	T2/0.14	T3/0.30	T4/0.42	T5/0.48	T6/0.57	T7/0.62
ปลาป่น	20	3	3	3	3	3	3
ถั่วเหลืองป่น	24	53	53	53	53	53	53
ปลายข้าวหัก	29.8	19.1	18.62	18.13	17.65	17.17	16.69
รำ	20	16	16	16	16	16	16
เมทไทโอนิน	0	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
น้ำมันปลา	1.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
วิตามินผสม ¹	1	1	1	1	1	1	1
แร่ธาตุผสม ²	3	3	3	3	3	3	3
Na(H ₂ PO ₄) ₂ ·2(H ₂ O)	0	0	0.48	0.97	1.45	1.93	2.41
โครมิกออกไซด์	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
องค์ประกอบทางเคมี							
โปรตีน	30.84	30.81	30.34	30.57	30.47	30.32	30.13
ไขมัน	7.85	7.39	7.57	7.61	7.55	7.63	7.27
เถ้า	10.6	8.44	8.72	8.92	9.25	9.33	9.68
เยื่อใย	4.19	5.34	5.31	6.06	6.19	6.35	6.5
NFE ³	38.95	40.67	41.06	39.42	37.80	39.27	38.74
ฟอสฟอรัสทั้งหมด							
(TP)	0.98	0.70	0.83	0.91	1.01	1.13	1.20
AvP ⁴	0.21	0.14	0.30	0.42	0.48	0.57	0.62

¹วิตามินผสม (ปริมาณ/อาหาร 1 กก) ประกอบด้วย Thiamine (B₁) 10 มิลลิกรัม; Riboflavin (B₂) 20 มิลลิกรัม; Pyridoxine (B₆) 10 มิลลิกรัม; Cobalamine (B₁₂) 2 มิลลิกรัม; Retinol (A) 4,000 IU; Cholecalciferol (D₃) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K₃) 80 มิลลิกรัม; Folic 5 มิลลิกรัม; Calcium pantothenate 40 มิลลิกรัม; Inositol 400 มิลลิกรัม; Niacin 150 มิลลิกรัม; Tocopherol (E) 50 มิลลิกรัม; Biotin 1 มิลลิกรัม; Ascorbic acid (C) 500 มิลลิกรัม

²แร่ธาตุรวม (ปริมาณ/แร่ธาตุผสม 1 กิโลกรัม) ประกอบด้วย Na 3.278 มิลลิกรัม; Mg 25.25 มิลลิกรัม; K 76.612 มิลลิกรัม; Ca 49.096 มิลลิกรัม; Fe 4.821 มิลลิกรัม; Zn 0.667 มิลลิกรัม; Mn 0.433 มิลลิกรัม; Cu 0.069 มิลลิกรัม และ I 0.015 มิลลิกรัม

³NEF คือ Nitrogen free extract

⁴ฟอสฟอรัสนำมาใช้ประโยชน์ได้ = ได้จากการคำนวณซึ่งอยู่บนฐานของประสิทธิภาพการย่อยและฟอสฟอรัสในอาหารทดลอง

อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส โดยไม่นำภาชนะเก็บมูลออกจากตู้เย็น เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองนำมูลที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำตัวอย่างไปวิเคราะห์เพื่อหา ปริมาณฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโครมิก ออกไซด์ในอาหารและในมูลอ้างอิงตามวิธีการของ Furukawa และ Tsukahara (1966) คำนวณสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้ง (dry matter) และสัมประสิทธิ์ในการย่อยฟอสฟอรัส (ADC P) ตามวิธีการของ Lee และคณะ (2002)

3.4.2 ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัม และกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตส

สุ่มปลาในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัวจากนั้นเจาะเลือดจากบริเวณโคนหางประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดไมโครทิวป์ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เก็บเฉพาะส่วนใส (serum) แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนแรกนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธี molybdate UV และวิเคราะห์ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสด้วยเครื่อง automated analyzer (Boehringer Mannheim Automated Analysis, Hitachi 717) ด้วยวิธีการของ Chen และคณะ (1956)

3.4.3 ฟอสฟอรัสในกระดูก และองค์ประกอบของเถ้า

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 5 ตัว แยกเครื่องในรวมทั้งหมด เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไขมันทั้งหมด ส่วนอวัยวะสำหรับการศึกษาองค์ประกอบของฟอสฟอรัสและเถ้า นำปลาไปต้มด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อแยกเอาส่วนต่างๆ คือ กระดูกสันหลัง กล้ามเนื้อ และซากรวม จากนั้นจึงนำไปทำให้แห้งโดย อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบเถ้าในกระดูกสันหลัง และ กระดูกปิดเหงือก สำหรับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในมูล และฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ (AOAC, 1990) เพื่อคำนวณหาค่าการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย (Retention) (Green *et al.*, 2002) ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง (P loaded) (Vielma *et al.*, 2000) ฟอสฟอรัสจากอาหารที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด (Cho *et al.*, 1994) ฟอสฟอรัสในของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด (total solid P waste) (Cho *et al.*, 1994) ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวม (total dissolved P waste)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูล โดยการใช้การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ANOVA ด้วย CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SPSS (Version 11.5)

ผลการทดลอง

4.1 พฤติกรรมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

จากการทดลองพบว่า ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองนี้ไม่พบความผิดปกติของรูปร่าง ลักษณะภายนอก พฤติกรรม สี ความผิดปกติของกระดูก ครีบ การตกเลือด เป็นต้น

4.2 การเจริญเติบโต

ปลานิลแดงแปลงเพศมีน้ำหนักเริ่มต้นระหว่าง 11.95 ± 0.01 ถึง 11.98 ± 0.02 กรัม จากการทดลองพบว่าระดับของฟอสฟอรัสที่นำมาใช้ประโยชน์ได้มีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ระดับ 0.4% (AvP=0.57) มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลาที่รับปลาป่นเป็นหลัก และมีค่าเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP=0.62) ดังตารางที่ 3

4.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์

เมื่อระดับของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้น พบว่าทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงที่สุดซึ่งไม่แตกต่างกับที่ระดับ 0.1% (AvP=0.30) ($p > 0.05$) มีค่า 1.58 ± 0.09 ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4% (AvP=0.57) มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุดและไม่แตกต่างกับที่ระดับ 0.5% (AvP=0.62) ($p > 0.05$) มีค่า 1.25 ± 0.06 ดังตารางที่ 3

เมื่อระดับของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 และ 0.5 (AvP=0.57 และ 0.62) มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนได้ดีกว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นเป็นหลักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งค่ามีแนวโน้มเดียวกับการเจริญเติบโต ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีไม่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟต (AvP=0.14) มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำที่สุด สำหรับอัตราการรอดตายพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในชุดการทดลอง ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 3

4.4 สัมประสิทธิ์การย่อยสลายอาหารในปลานิลแดงแปลงเพศ องค์ประกอบของเถ้าในกระดุกปิดแห้งอก เถ้าในกระดุกสันหลัง ฟอสฟอรัสในกระดุกสันหลัง ฟอสฟอรัสในมูล และฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ

ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งพบว่า เมื่อระดับของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้น มีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งมีค่าเพิ่มมากขึ้น ปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารที่ทุกระดับยกเว้นในระดับที่ไม่มีเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตมีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งที่ดีกว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นเป็นหลัก ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัส 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) มีค่าสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับที่ระดับ 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.14 และ 0.30) โดยค่าประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งในปลาได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัส และปลาป่นระดับต่ำมีค่าต่ำที่สุด ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 4

จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสพบว่าอาหารทุกชุดการทดลองมีค่าประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสที่ดีกว่า อาหารที่มีปลาป่นเป็นหลัก ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด รองลงมาคืออาหารที่ระดับ 0.4 0.3 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) กับที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.30) มีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัส 35.96 ± 24.76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์¹ (กรัมต่อตัว)

ชุดทดลอง	การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหาร								
	MSP/AvP ²	ปลาเริ่มต้น	ปลาสิ้นสุดท้าย	Weight gain ⁴	SGR ⁵	FCR ⁶	PER ⁷	PPV ⁸	Survival rate ⁹
1	HFM ³ /0.21	11.98±0.02	57.02±3.96 ^{ab}	376.2±33.92 ^{ab}	2.78±0.13 ^{ab}	1.40±0.05 ^b	2.31±0.08 ^b	28.55±1.03 ^b	100
2	0/0.14	11.97±0.02	37.85±2.39 ^c	210.53±15.06 ^c	2.02±0.09 ^c	1.64±0.11 ^a	1.99±0.13 ^c	22.17±1.66 ^c	98.33±2.89
3	0.1/0.30	11.95±0.01	41.35±2.38 ^c	245.92±20.29 ^c	2.21±0.1 ^c	1.58±0.09 ^a	2.09±0.11 ^c	23.87±1.49 ^c	100
4	0.2/0.42	11.95±0.04	52.67±4.83 ^b	340.77±40.33 ^b	2.64±0.16 ^b	1.41±0.08 ^b	2.33±0.13 ^b	29.37±1.12 ^b	100
5	0.3/0.48	11.96±0.03	53.40±5.87 ^b	346.52±47.76 ^b	2.67±0.19 ^b	1.36±0.11 ^{bc}	2.41±0.19 ^b	30±0.41 ^b	100
6	0.4/0.57	11.96±0.04	63.02±2.97 ^a	427.11±25.34 ^a	2.97±0.09 ^a	1.24±0.02 ^c	2.67±0.05 ^a	35.43±0.72 ^a	100
7	0.5/0.62	11.97±0.04	63.48±3.89 ^a	422.22±47.98 ^a	2.95±0.17 ^a	1.25±0.06 ^c	2.68±0.11 ^a	35.48±1.56 ^a	98.33±2.89

¹ตัวเลขที่นำเสนอมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²ค่าที่ได้จากการคำนวณซึ่งอยู่บนพื้นฐานของประสิทธิภาพการย่อยและฟอสฟอรัสในอาหารทดลอง

³HFM = high fish meal - based diets

⁴น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%) = (น้ำหนักสุดท้าย - น้ำหนักเริ่มต้น) / น้ำหนักเริ่มต้น x 100

⁵อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = (ln น้ำหนักสุดท้าย - ln น้ำหนักเริ่มต้น) / วัน x จน.ปลาสุดท้าย

⁶อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = อาหารที่ปลากิน / น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

⁷ประสิทธิภาพการใช้อาหารโปรตีน = น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน

⁸โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ = (โปรตีนสุดท้าย - โปรตีนเริ่มต้น) / น้ำหนักโปรตีนตลอดการทดลอง x 100

⁹อัตราการรอดตาย (%) = (จน.ปลาสุดท้าย - จน.ปลาเริ่มต้น) / จน.ปลาเริ่มต้น x 100

ค่าเฉลี่ยในสมมติที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$)

ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆกัน พบว่ามีค่าเป็นองค์ประกอบในกระดูกปิดเหงือก ถ้าในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ และ ฟอสฟอรัสในมูลเพิ่มขึ้นเป็นลำดับเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น โดยพบว่าปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบมากที่สุดและมีความมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาปนเป็นหลัก ดังตารางที่ 4

4.5 องค์ประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัว

น้ำหนักแห้งของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีความชื้น 71.9 ± 1.66 เปอร์เซ็นต์ หลังจากที่ได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์พบว่าฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ไม่มีความสัมพันธ์ต่อความชื้นปลาทั้งตัวและไม่มี ความแตกต่างทางสถิติในระหว่างชุดการทดลอง ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 5

ปริมาณโปรตีนของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 52.24 ± 1.39 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากการทดลองพบว่าโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้น สำหรับโปรตีนในปลาที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.2 ถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสจากปลาปนเป็นหลัก แต่ไม่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาปนระดับต่ำและไม่มีเสริมฟอสฟอรัส และที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ($AvP = 0.30$) ดังตารางที่ 5

องค์ประกอบไขมันของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัว เมื่อเริ่มต้นการทดลองมีไขมันเป็นองค์ประกอบ 25.56 ± 0.11 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 ชุดพบว่าปริมาณไขมันในปลาทั้งตัวแนวโน้มลดลง ปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสจากปลาปนเป็นหลักพบว่าไขมันในตัวปลาทั้งหมดน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ($AvP = 0.14$ และ 0.30) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่มากกว่าปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ($AvP = 0.57$ และ 0.62) เมื่อระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีระดับเพิ่มมากขึ้น ส่วนปลาที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันเป็นองค์ประกอบมากที่สุด ตามด้วยที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์มีค่า 28.65 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มเช่นเดียวกับไขมันในเครื่องในรวมดังตารางที่ 5

ปลานิลแดงแปลงเพศเมื่อปริมาณของโมโนโซเดียมในอาหารเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าในตัวปลาทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ($AvP = 0.62$) มีค่าเป็นองค์ประกอบสูงสุด และส่วนที่ระดับต่ำสุดคือปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับระดับฟอสฟอรัสในซากปลาทั้งตัว ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 สัมประสิทธิ์การย่อยสลายอาหาร องค์ประกอบของเถ้าในกระดูกปิดเหงือก เถ้าในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในมูล และฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ จำนวน 7 สูตรเป็นเวลา 10 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	MSP/AvP ²	ADC dry matter	ADC phosphorus	Opacular ash ⁴	Vertebrae ash ⁵	Vertebrae phosphorus ⁶	Finlet phosphorus ⁷	Feces phosphorus ⁸
T1	HFM ³ /0.21	59.44±0.82 ^c	21.33±0.1 ^c	58.19±0.33 ^b	53.55±0.82 ^b	8.12±1.61 ^c	0.77±0.01 ^a	2.12±0.26 ^a
T2	0/0.14	54.65±2.55 ^d	20.48±1.74 ^c	52.35±0.04 ^d	49.15±0.17 ^d	8.01±0.02 ^c	0.36±0.07 ^c	1.27±0.03 ^c
T3	0.1/0.30	60.05±1.49 ^{bc}	35.96±24.76 ^b	56.77±0.31 ^c	49.54±0.04 ^d	9.02±0.12 ^{bc}	0.40±0.03 ^c	1.31±0.06 ^c
T4	0.2/0.42	63.54±1.34 ^{ab}	45.87±6.57 ^a	57.07±0.4 ^c	49.99±0.25 ^d	9.03±0.17 ^{bc}	0.48±0.09 ^{bc}	1.38±0.09 ^{bc}
T5	0.3/0.48	62.45±1.31 ^{abc}	47.32±5.04 ^a	58.52±0.09 ^b	52.45±0.19 ^c	9.03±0.57 ^{bc}	0.65±0.14 ^{ab}	1.43±0.09 ^{bc}
T6	0.4/0.57	63.78±0.44 ^b	50.43±0.42 ^a	58.67±0.2 ^b	53.91±0.57 ^b	10.57±0.45 ^{ab}	0.72±0.18 ^{ab}	1.56±0.05 ^{bc}
T7	0.5/0.62	64.55±1.35 ^a	52.87±3.98 ^a	60.71±0.33 ^a	55.54±0.40 ^a	11.94±0.59 ^a	0.89 ^a	1.64±0.05 ^b

¹ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²ค่าที่ได้จากการคำนวณซึ่งอยู่บนฐานของประสิทธิภาพการย่อยและฟอสฟอรัสในอาหารทดลอง

³HFM = high fish meal - based diets

⁴การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย = 100 x (ฟอสฟอรัสในซากสุดท้าย - ฟอสฟอรัสในซากเริ่มต้น)/ฟอสฟอรัสที่ใช้ได้ทั้งหมด

⁵ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง = (ฟอสฟอรัสที่ได้รับ - ฟอสฟอรัสคงเหลือ)/น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

⁶ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวม=ฟอสฟอรัสในอาหาร - ฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกาย

⁷ของเสียฟอสฟอรัสที่เป็นของแข็ง=ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร x (1-ADC P)/100

⁸ของเสียฟอสฟอรัสที่เป็นของเหลว= ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารx(ADC P - ฟอสฟอรัสสะสมในร่างกาย)/100

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวที่ได้รับอาหารทดลอง 7 สูตรเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (เปอร์เซ็นต์)¹

ชุดทดลอง	MSP/AvP ³	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส	ไขมันในอวัยวะภายในรวม
ปลาเริ่มต้น	-	71.9±1.66	52.24±1.39	25.56±0.11	15.84±0.09	1.17±0.03	-
1	HFM based-diet/0.21	77.46±0.14	52.52±0.49 ^b	25.93±0.87 ^b	13.44±0.3 ^b	1.73±0.25 ^{bc}	47.15±2.23 ^a
2	0/0.14	77.28±0.31	50.97±0.50 ^b	28.72±0.34 ^a	9.71±0.01 ^e	1.42±0.01 ^c	39.74±0.01 ^{ab}
3	0.1/0.30	76.98±0.01	51.16±0.11 ^b	28.65±0.36 ^a	10.03±0.1 ^e	1.54±0.01 ^c	40.21±1.08 ^{ab}
4	0.2/0.42	76.96±0.06	55.49±1.47 ^a	26.56±0.85 ^b	11.87±0.12 ^d	1.88±0.13 ^{bc}	39.12±0.77 ^{ab}
5	0.3/0.48	77.64±0.1	54.06±2.44 ^a	25.32±0.14 ^b	11.61±0.43 ^d	1.96±0.04 ^{bc}	39.54±0.12 ^{ab}
6	0.4/0.57	76.86±1.03	55.19±0.65 ^a	22.41±0.14 ^c	12.56±0.43 ^c	2.22±0.03 ^{ab}	35.87±4.88 ^b
7	0.5/0.62	76.39±1.99	54.10±0.9 ^a	21.80±0.31 ^c	14.15±0.66 ^a	2.66±0.54 ^a	33.69±4.22 ^b

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

² HFM based diet = high fish meal - based diets

³ ค่าที่ได้จากการคำนวณซึ่งอยู่บนพื้นฐานของประสิทธิภาพการย่อยและฟอสฟอรัสในอาหารทดลอง

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$)

4.6 ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งในรูปของแข็ง และฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งในรูปของสารละลาย

ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมในปลาที่ได้รับอาหารเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ระดับ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.30 และ 0.42) มีปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมน้อยกว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสจากปลาป่นเป็นหลัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่อาหารที่มีฟอสฟอรัสจากปลาป่นเป็นหลักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ระดับ 0.3 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) มีปริมาณของฟอสฟอรัสในซีรัมในปริมาณมากที่สุด และปลาที่ไม่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารมีปริมาณของฟอสฟอรัสในซีรัมปริมาณน้อยที่สุด ดังตารางที่ 6

กิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองครั้งนี้พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 19.33 ± 6.66 ถึง 23.67 ± 5.51 ยูนิต์ต่อลิตร โดยในระหว่างชุดการทดลองทั้ง 7 ชุดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 6

โมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ กันในอาหาร พบว่าเมื่อมีระดับเพิ่มขึ้นมีผลทำให้การนำฟอสฟอรัสไปใช้เพื่อการสะสมเพิ่มขึ้นตามกัน ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) มีปริมาณการสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายสูงที่สุด สำหรับปลานิลที่ได้รับอาหารที่ระดับ 0.4 0.3 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีการสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาสูงกว่าอาหารที่มีฟอสฟอรัสจากปลาป่นเป็นหลัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์มีการสะสมฟอสฟอรัสในตัวต่ำที่สุด มีค่า 30.76 ± 2.02 เปอร์เซ็นต์ดังตารางที่ 6

เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ระดับต่างๆ กัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ฟอสฟอรัสจากปลาป่นเป็นหลักมีการขับฟอสฟอรัสทิ้ง และฟอสฟอรัสถูกขับทิ้งทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็ง และของเหลวมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เมื่อระดับโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) ส่วนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.14) มีฟอสฟอรัสขับทิ้งน้อยที่สุด ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 6

Table 6. การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งในรูปของแข็ง และฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งในรูปของสารละลาย ของปลานิลแดง แปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 7 ระดับ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	MSP/AvP ²	P in serum	Alkaline phosphatase	P retention ⁴	P loaded ⁵	Total P waste ⁶	Total solid P waste ⁷	Total dissolved P waste ⁸
T1	HFM ³ /0.21	21.13±3.99 ^{ab}	19.33±6.66	37.19±1.74 ^{cd}	6.40±0.57 ^a	6.20±0.16 ^{bc}	5.20±0.03 ^b	1.00±0.17 ^a
T2	0/0.14	9.77±1.72 ^e	21.33±3.21	30.76±2.02 ^e	3.14±0.58 ^c	4.81±0.14 ^e	4.80 ^d	0.01±0.14 ^c
T3	0.1/0.30	12.83±1.33 ^{de}	25±3.00	35.43±1.72 ^D	3.23±0.53 ^c	5.35±0.14 ^d	5.3±0.00 ^b	0.09±0.10 ^{bc}
T4	0.2/0.42	16.53±2.47 ^{cd}	21.67±1.53	39.8±1.85 ^{BC}	5.26±0.39 ^b	5.49±0.17 ^d	4.94 ^c	0.55±0.17 ^{abc}
T5	0.3/0.48	17.53±1.40 ^{bc}	23.67±5.51	40.08±2.90 ^{BC}	5.78±0.91 ^{ab}	6.05±0.29 ^c	5.32 ^b	0.73±0.29 ^{ab}
T6	0.4/0.57	24.67±1.42 ^a	21±2.00	42.57±4.07 ^B	5.92±0.31 ^{ab}	6.50±0.06 ^{ab}	5.61 ^a	0.89±0.06 ^a
T7	0.5/0.62	23.62±1.91 ^a	23±6.24	48.93±3.23 ^A	5.56±0.35 ^{ab}	6.54±0.19 ^a	5.67 ^a	0.87±0.19 ^a

¹ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²ค่าที่ได้จากการคำนวณซึ่งอยู่บนฐานของประสิทธิภาพการย่อยและฟอสฟอรัสในอาหารทดลอง

³HFM = high fish meal - based diets

⁴การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย = 100 x (ฟอสฟอรัสในซากสุดท้าย - ฟอสฟอรัสในซากเริ่มต้น)/ฟอสฟอรัสที่ใช้ได้ทั้งหมด

⁵ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง = (ฟอสฟอรัสที่ได้รับ - ฟอสฟอรัสคงเหลือ)/น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

⁶ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวม=ฟอสฟอรัสในอาหาร - ฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกาย

⁷ของเสียฟอสฟอรัสที่เป็นของแข็ง=ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร x (1-ADC P)/100

⁸ของเสียฟอสฟอรัสที่เป็นของเหลว= ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารx(ADC P - ฟอสฟอรัสสะสมในร่างกาย)/100

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.57%) เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับเสริมในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศที่มีปลาปนระดับต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรดังกล่าวมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่สูงกว่าอาหารสูตรอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับสูตรที่มีฟอสฟอรัส 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.64%) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Viola และ Arieli, (1983); Robinson และคณะ (1987) ที่พบว่าปลานิลมีความต้องการฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 0.45-0.6 เปอร์เซ็นต์ และ 0.3-0.6 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสที่ปลาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ส่วนปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าที่ระดับอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟต (AvP=0.14) ให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นต่ำที่สุด เช่นเดียวกับที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.30) ทั้งนี้กล่าวได้ว่าอาหารสูตรดังกล่าวมีระดับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอต่อความต้องการในปลานิลแดงแปลงเพศ ในขณะที่ Hardy และคณะ (1985) กล่าวว่าเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหารมีต่ำกว่า 20 - 30% ของความต้องการปริมาณความต้องการฟอสฟอรัสในปลาแต่ละชนิด จะมีผลทำให้กระดูกสันหลังคดงอ และกระดูกปิดเหงือกหลุดเป็นต้น จากการทดลองจึงทำให้ทราบว่า การเจริญเติบโตมีผลโดยตรงต่อระดับฟอสฟอรัสที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลาคาร์พ (Ogino and Takeda, 1978) ปลาเรดซีบรีม (Sakamoto and Yone, 1978) ปลาดุก (Wilson *et al.*, 1982) ปลากะพงชันชาย (Brown *et al.*, 1993) ปลาเรนโบว์ เทราท์ (Ketola and Richmond, 1994) และ ปลาแฮตด็อก (Roy and Lall, 2003)

สำหรับประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหารในแนวทางเดียวกับการเจริญเติบโต สำหรับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ (AvP 0.14, 0.30 และ 0.42) มีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอส่งผลให้ปลาเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้สูง ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เหมาะสมต่อความต้องการ ดังนั้นปลาจึงกินอาหารเพิ่มมากขึ้น เพื่อนำฟอสฟอรัสมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด (Eya and Lovell, 1997; Skonberge *et al.*, 1997; Vielma *et al.*, 2002) ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร (PER) และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV) จากการทดลองพบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตในระดับเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Roy และ Lall (2003) พบว่าในอาหารที่มีฟอสฟอรัสในระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ มีผลทำให้การนำโปรตีนไปใช้ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสอย่างเพียงพอต่อความต้องการ ทั้งนี้เนื่องจากว่าปลานำเอาโปรตีนที่ได้จากอาหารเปลี่ยนรูปไปเป็นพลังงานทดแทนการสะสมในร่างกาย ระดับของฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้มีความสัมพันธ์กับค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบ และฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่าสัมประสิทธิ์การย่อยของอาหารทดลองสูตรที่มีปลาปน

เป็นหลัก (AvP=0.21) พบว่ามีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตซึ่งมีส่วนสัมพันธ์กับระดับการสะสมฟอสฟอรัสและเถ้าใน กระดูก และ กล้ามเนื้อ ทั้งนี้เนื่องจากว่าปริมาณฟอสฟอรัสในปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาปนเป็นหลักปลาสามารถย่อยได้น้อย การนำฟอสฟอรัสจากปลาปนไปใช้ประโยชน์จึงต่ำโดยปลาปน และเนื่องจากฟอสฟอรัสในปลาปนอยู่ในรูปแบบไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) เป็นหลักจึงมีความสามารถในการแตกตัว และการละลายได้ต่ำ ดังนั้นประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์จึงต่ำกว่าอาหารที่เสริมด้วยโมโนโซเดียมฟอสเฟต (Watanabe *et al.*, 1988; NRC, 1993)

การศึกษาองค์ประกอบของเถ้าในกระดูกปิดเหงือก เถ้าในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง ฟอสฟอรัสในมูล และฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ พบว่ามีระดับเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อระดับฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้มีค่าเพิ่มขึ้น จึงทำให้ทราบว่าระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสในอาหารของปลา สอดคล้องกับการศึกษาของ Eya และ Lovell (1997) ซึ่งรายงานว่าการเสริมฟอสฟอรัสในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารปลากดอเมริกกันช่วยให้ปลามีฟอสฟอรัสสะสมในกระดูกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ Robinson และคณะ (1987) พบว่าการเสริมฟอสฟอรัสในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตในปลานิลสีฟ้าทำให้ระดับฟอสฟอรัสในกระดูกเพิ่มขึ้นจากระดับฟอสฟอรัส 0.2 จนถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสัตว์ตัวๆ ไป องค์ประกอบของเถ้าในกระดูกสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ให้ทราบถึงประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้เนื่องจากว่าองค์ประกอบหลักของกระดูกปลา ในส่วน extracellular matrix ของกระดูก พบว่ามีสารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) เพียงชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบ หรือผสมกันระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์ และแคลเซียมฟอสเฟตเป็นหลัก ซึ่งเป็นแหล่งที่สำคัญของฟอสฟอรัส และแคลเซียม ดังนั้นในกระดูกของปลาจึงเป็นแหล่งสะสมของแร่ธาตุที่สำคัญได้เป็นอย่างดี และเป็นอวัยวะสำหรับการชีวิตถึงความต้องการแร่ธาตุในระดับที่เหมาะสม (Davis and Robinson, 1987; Robinson *et al.*, 1987; Skongberg *et al.*, 1997; Mai *et al.*, 2006) จากการทดลองในครั้งนี้จึงทำให้ทราบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.57) เป็นระดับที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโต ทั้งนี้เนื่องจากว่าเป็นระดับที่มีความสามารถในการสะสมฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลังได้สูงสุด และการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (AvP=0.62) ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาในปลาดุกขนาดใหญ่พบว่าการสะสมฟอสฟอรัสในกระดูกไม่เพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้นมากกว่า 0.35 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสในมูลพบว่าเมื่อระดับของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่ม มีผลทำให้ปริมาณของฟอสฟอรัสในมูลเพิ่มมากขึ้น และสอดคล้องกับ Eya และ Lovell, 1997; Weerasinghe และคณะ 2001 ในขณะที่เมื่อปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีปลาปนเป็นหลักนั้น (AvP=0.21) พบว่ามีปริมาณของฟอสฟอรัสในมูลสูงที่สุด เนื่องจากว่าแหล่งของฟอสฟอรัสในอาหารสูตรนี้เป็นปลาปนที่อยู่ในรูปไตรแคลเซียมฟอสเฟต (NRC, 1993)

จากการศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมพบว่า เมื่อระดับโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับของฟอสฟอรัสในซีรัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จาก 9.77 ถึง 24.67 mg/l ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้อง

กับการศึกษาของ El-Zibdeh และคณะ (1995a); Rodehutsord, (1996); Vielma และ Lall, (1998); Roy และ Lall, (2003) ส่วนการศึกษาของ Sugiura และคณะ (2000) พบว่าในปลาเรนโบว์ เทราท์ มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสในเลือดมีส่วนสัมพันธ์กับระดับพลังงาน (ATP) ในเลือดและกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าการเก็บตัวอย่างของฟอสฟอรัสในพลาสมาในแต่ละช่วงของวันนั้นมีความแตกต่างกัน ฟอสฟอรัสในพลาสมาจะมีค่าคงที่ที่สุดหลังจากที่ปลาได้รับอาหาร และเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร (Rodehutsord, 1996) Browser และคณะ 1989 กล่าวว่า ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมของปลาคาร์พมีค่าสูงที่สุดเพียง 1 ชั่วโมงหลังจากให้อาหาร หลังจากนั้นค่าจะลดลงอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารมีส่วนสัมพันธ์ต่อระดับของฟอสฟอรัสในซีรัม ในขณะที่ Hille, (1982); Skonberg และคณะ (1997) พบว่าฟอสฟอรัสในซีรัมในปลาเรนโบว์ เทราท์ไม่ได้ขึ้นอยู่กับระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร อย่างไรก็ตามไม่เพียงแต่ระดับของฟอสฟอรัสในอาหารที่มีอิทธิพลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมแต่ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ทางกายภาพ และสภาพแวดล้อมอีกด้วย เช่น ความถี่ในการให้อาหารปลา สิ่งรบกวนภายนอก และความเครียดก่อนการเก็บตัวอย่างเลือด (Bjornsson and Haux, 1985) ดังนั้นการวัดระดับของฟอสฟอรัสในเลือดจึงไม่เหมาะสมสำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัส และความต้องการฟอสฟอรัส (Eya and Lovell, 1997; Skonberg *et al.*, 1997; Roy and Lall, 2003) แต่อย่างไรก็ตามก็มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการศึกษาฟอสฟอรัสในซีรัมควบคู่ไปกับการศึกษาตัวชี้วัดชนิดอื่นด้วย (Sugiura *et al.*, 2004)

โดยทั่วไปการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสนั้นมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการเผาผลาญแร่ธาตุจำพวก แคลเซียม และฟอสฟอรัส เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสร้างโครงร่างแข็งในร่างกาย เช่น การสร้างกระดูกแข็ง และกระดูกอ่อนซึ่งพบได้ทั้งในสัตว์บก และสัตว์น้ำ แต่โดยมากแล้วจะพบว่าเมื่อมีกิจกรรมการสร้างกระดูกแข็งจะมีผลทำให้มีการเพิ่มปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมมากขึ้น และพบมากในสัตว์ชั้นสูง จากการทดลองในปลานิลแดงแปลงเพศในครั้งนี้ พบว่าระดับของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในอาหารทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าระดับของฟอสฟอรัสในอาหารไม่มีความสัมพันธ์ต่อกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส สอดคล้องกับการศึกษาของ Shearer และ Hardy (1987) โดยไม่พบความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลาเรนโบว์ เทราท์ที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ระดับต่างๆ กัน ในขณะที่การศึกษาของ Skonberg และคณะ (1997) พบว่าระดับของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้น เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดกระบวนการสะสมของแร่ธาตุในกระดูกเพิ่มขึ้น ในขณะที่การศึกษาของ Sakamoto และ Yone (1980) พบว่าปลาเรดซีบรีม (red seabream) ที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอ มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงกว่าปลาที่รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ สิ่งเหล่านี้ทำให้ทราบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสยังมีความแปรปรวน ทั้งเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ คือ การจัดการคุณภาพน้ำ ปริมาณอาหารที่ปลากิน อุณหภูมิ (Sauer and Haider, 1977) และช่วงชีวิต (Johnson *et al.*, 2000) เป็นต้น ซึ่งมีผลต่อความไม่คงที่ของระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

การศึกษาของคัมพรประกอบทางเคมีพบว่า ไขมันในตับปลา และไขมันในเครื่องในรวมพบว่ามีปริมาณลดลง เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องในหลายๆ การศึกษาเช่น Sakamoto และ Yone, (1978); El-Zibdeh และคณะ (1995); Eya และ Lovell, (1997); Vielma และคณะ (2002) กล่าวว่าปริมาณไขมันที่สะสมมากในปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการนั้น เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (intermediate mechanism) ภายในร่างกายมากกว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณการกินอาหาร ซึ่งแต่เดิมเชื่อว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสไม่เพียงพอต่อความต้องการ ปลาที่พยายามจะกินอาหารในปริมาณเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ฟอสฟอรัสที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย และมีผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้ก็พบความสัมพันธ์ของไขมัน ฟอสฟอรัส และอัตราการเปลี่ยนเป็นเนื้อเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น Roy และ Lall (2003) พบว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอจะมีผลทำให้ไขมันเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เกิดอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาการสลายกรดไขมัน (β - oxidation) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการสลายไขมัน และก่อให้เกิดพลังงานภายในร่างกายนั้นถูกยับยั้ง จึงมีผลทำให้ปริมาณการสะสมกรดไขมันในตัวเพิ่มมากขึ้น โดยกระบวนการสร้างพลังงานเกิดขึ้นจากกรดไขมันที่สะสมรอบๆ ไมโทคอนเดรีย (extra-mitochondrial fatty acids) ซึ่งจำนวน 1 โมเลกุลของกรดไขมันจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ 2 กระบวนการคือ เอทีพี - ไตรเวเนเอสเทอร์ริฟิเคชัน (ATP-driven esterification) กับ เอกซ์ตรา-ไมโทคอนเดรีย (extra-mitochondria) ผลที่ได้ทำให้เกิดผลผลิตคือ แฟตตีเอซิล-โคเอ (fatty acyl CO-A) ซึ่งเป็นผลผลิตที่ก่อให้เกิดพลังงานสูงนั่นเอง จากการทดลองในปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอจะถูกยับยั้งในกระบวนการที่ได้กล่าวข้างต้น และมีผลให้การนำไขมันไปใช้เพื่อในการผลิตพลังงานลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อไขมันใน ตับ (Yang, 2006) กล้ามเนื้อ และกระดูก (Eya and Lovell, 1997) จากการศึกษาของ Yang (2006) พบว่าระดับของไตรกรีเซอไรด์ในไขมันตับเพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสไม่เพียงพอต่อความต้องการ แต่กลับพบว่าระดับของฟอสฟาทีดีลเอทีโนลามีน (Phosphatidyl ethinolamine) และ ฟอสฟาทีดีลโคลีน (phosphatidyl choline) เพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการในปลาซิลเวอร์เพิร์ช (*Bidyanus bidyanus*) ในขณะที่ Takeuchi และ Nakazoe (1981) พบระดับไขมันไม่มีขั้ว (Non-polar lipid) ในตับอ่อนมีค่าสูงในปลาคาร์พ เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในระดับต่ำ นอกจากนี้ Roy และ Lall (2003) ยังพบว่าไม่เพียงแต่ระดับของไขมันที่ลดลงเมื่อระดับของฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเท่านั้น แต่ยังพบโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในซากปลารวมทั้งตัวเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ซึ่งพบว่าองค์ประกอบของโปรตีนในซากปลาทั้งตัวมีความสัมพันธ์กับฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ สำหรับโปรตีนโดยปกติแล้วปลาจะนำไปใช้ในการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนต่างๆ ของร่างกาย ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ปลาจะนำโปรตีนที่ได้รับนำไปใช้สำหรับการสลายเพื่อก่อให้เกิดพลังงานแทนไขมัน (protein sparing effects) อย่างไรก็ตาม Aires และ Ana (2005) พบว่าปลาอะพวงยุโรป (European

seabass) นั้นไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างฟอสฟอรัสต่อองค์ประกอบต่างในร่างกายคือ เถ้า ฟอสฟอรัส และ ปริมาณไขมันในซากปลาทั้งตัว ทั้งนี้เนื่องจากการออกแบบการทดลองที่มีปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหาร ในช่วงแคบจึงมีผลทำให้ระดับของฟอสฟอรัสในอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการสำหรับปลา

สำหรับปริมาณเถ้า และ ฟอสฟอรัสในซากปลาทั้งตัวสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความต้องการ ฟอสฟอรัสในปลาได้ (Skonberg *et al.*, 1997) โดยปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหารจะมีผลโดยตรงต่อการ สะสมของฟอสฟอรัสในกระดูก Ye และคณะ (2006) พบว่าในลูกปลากะพงขาว (juvenile grouper; *Epinephelus coioides*) ที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมฟอสฟอรัส มีเถ้า ฟอสฟอรัสในกระดูก และกระดูกปิด เหงือกมีฟอสฟอรัสที่ต่ำกว่าในระดับอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sakamoto และ Yone., 1978

จากการทดลองพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกายในอาหารที่มีการเสริมด้วยโมโนโซเดียม ฟอสเฟตพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟต (AvP=0.14%) พบว่าระดับฟอสฟอรัสใน สะสมในร่างกายมีค่าต่ำที่สุด ในขณะที่ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณการสะสมมาก ที่สุด จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีความสัมพันธ์ต่อการนำฟอสฟอรัสไปใช้ ประโยชน์ในร่างกายซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Johnson และคณะ (2000) ซึ่งพบความสัมพันธ์ระหว่าง การปริมาณการสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายมีส่วนสัมพันธ์กับระดับของฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ ได้ Rodehutsord และคณะ (1996) พบว่าเมื่อปลาเรนโบว์ เทราที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่สามารถ นำไปใช้ประโยชน์ได้ต่ำ มีผลให้ปลาสามารถนำฟอสฟอรัสไปเพื่อการสะสมในร่างกายได้ทั้งหมด ใน ขณะเดียวกันฟอสฟอรัสที่ปลาไม่สามารถนำมาใช้ในการสะสมในร่างกาย ฟอสฟอรัสเหล่านี้จะถูกขับออกจาก ร่างกายทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น รูปแบบของฟอสฟอรัสที่เสริมลงในอาหาร และปริมาณวัตถุดิบพืชที่มี กรดไฟติกเป็นองค์ประกอบในอาหาร Rodehutsord, (1996); Halver และ Hardy (2002); Jahan และคณะ (2003) กล่าวว่า เมื่อสารอาหารในอาหารที่มีในระดับสูงเกินกว่าความต้องการของปลา ก็จะส่งผลให้ ประสิทธิภาพการนำสารอาหารไปใช้เพื่อการสะสมลดลง

สำหรับการศึกษาปริมาณของฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายทั้งหมด Bureau และ cho (1999) กล่าวว่าเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในอาหารน้อยหรือไม่มีเป็นองค์ประกอบเลยในอาหารนั้น พบว่ามี ผลทำให้การขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้มีปริมาณน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าปลาสามารถนำ ฟอสฟอรัสที่สามารถย่อยได้นำเอาไปใช้เพื่อการสะสมได้ทั้งหมด อย่างไรก็ตามเมื่อระดับของฟอสฟอรัสที่ย่อย ได้ อาหารมีเพิ่มมากขึ้นก็จะมีผลทำให้การขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียว การศึกษาของ Rodehutsord (1996) ที่กล่าวว่าปริมาณการสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย หรือการนำ ฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์อย่างสูงสุดนั้น ไม่สามารถสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายได้ทั้งหมด ถ้าปริมาณของ ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้ จึงมีผลทำให้เกิดการขับออกมาในปริมาณมากขึ้น ปกติแล้วพบว่า การขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้จะขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหาร ซึ่ง แสดงให้เห็นว่าการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้นั้น จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อปริมาณของฟอสฟอรัสที่

สามารถย่อยได้มีระดับที่มากอย่างเพียงพอสำหรับการนำฟอสฟอรัสไปใช้เพื่อการสะสม และหรือ เมื่อปริมาณการดูดซึมในลำไส้ และ กลไกการดูดซึมของไตอยู่ในระดับที่มากเกินไป จึงทำให้ปลาต้องมีการขับฟอสฟอรัสส่วนเกินซึ่งอยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้ออกมาได้นั้นเอง จากการทดลองนี้จึงทำให้เห็นได้ว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัสนั้นเป็นระดับที่ไม่มีการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำ ทำให้ทราบว่าปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหารนั้นมีระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ และขณะเดียวกันเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้นก็มีผลทำให้ปริมาณการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้นั้นมีค่าเพิ่มขึ้น และจะเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีในระดับที่มากเกินไปกว่าความต้องการของปลา (Avila *et al.*, 2000) ซึ่งก็เป็นปกติที่ไตจะทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของธาตุอาหารในร่างกาย เช่นเดียวกับที่มีรายงานในปลาเรนโบว์ เทราท์ และในปลาไหล (Green *et al.*, 2002; Fenwick and Vermette, 1989) ตามลำดับ

สรุป

จากการศึกษาอาหารที่เสริมด้วยโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ จำนวน 6 ระดับลงในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 10 สัปดาห์พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร หรือที่ระดับที่มีฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ 0.57 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศทั้งนี้พิจารณาจาก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (percent weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (protein productive value) ไขมันในซากปลาทั้งตัว ฟอสฟอรัสในซากปลาทั้งตัว ฟอสฟอรัสในซีรัม ฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลัง และฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งทั้งหมด พบว่ามีค่าสูงแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัส 0.62 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยปลานิลแดงแปลงเพศสามารถนำฟอสฟอรัสนำไปใช้เพื่อการสะสมในร่างกายได้ดีกว่าที่ระดับอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

- มะลิ บุญยรัตผลิน และ จุอะตี พงศ์มณีรัตน์. 2533. ความต้องการฟอสฟอรัสในอาหารปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการ. สงขลา: สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Method of Analysis. Washington, DC: AOAC.
- Avila, E.M., Basantes, S.P. and Ferraris, R.P. 1999. Cholecalciferol modulates plasma phosphate but not plasma vitamin D levels and intestinal phosphate absorption in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Gen, Comp. Endocrinol. 144: 460-469.

- Bjornsson, B.T. and Haux, C. 1985. Distribution of calcium, magnesium and inorganic phosphate in plasma of estradiol-17 beta treated rainbow trout. *J.Comp. Physiol.* 155: 347-352.
- Bowser, P.R., Wooster, G.A., Aluisio, A.L. and Blue, J.T. 1989. Plasma chemistries of nitrite stressed Atlantic salmon *Salmo salar*. *J. World Aquac. Soc.* 20: 173-180.
- Bureau, D.P. and Cho, C.Y. 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Estimation of dissolved phosphorus waste output. *Aquaculture* 179: 127-140.
- Cho C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.R. and Yoshida, H.K. 1994. Development of high-nutrient- dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture* 124: 293-305.
- Chung, T.K. 2002. How to get the best out of phytase. *Feed Mix* 10: 27-29.
- Davis, D.A. and Robinson, E.H. 1987. Dietary phosphorus requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *J. World Aqua. Soc.* 18: 129-136.
- Dupree, H.K. and Sheed, K.P. 1966. Response of Channel Catfish Fingerling to Different Levels of Major Nutrients in Purified Diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlife Tech. Pap. No. 9.
- El-Zibdeh, M., Yoshimatsu, T., Masui, S., Furuichi, M., Kitajima, C. and Azuma, R. 1995. Requirement of redlip mullet for dietary phosphorus. *J.Fac.Agric., Kyushu Univ.* 40: 135-145.
- Eya, J.C. and Lovell, R.T. 1997. Available phosphorus requirements of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds. *Aquaculture* 154: 283-292.
- Fenwick, J.C. and Vermette, M.G. 1989. Vitamin D3 and renal handling of phosphate in American eels. *Fish Physiol. Biochem.* 7: 351-358.
- Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- Furakawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 32: 502-506.
- Green, J.A, Brannon, E.L. and Hardy, R.W. 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Production-scale study. *Aquacult. Nutr.* 8: 291-298.
- Halver, J.E. and Hardy, R.W. 2002. *Fish Nutrition*. School of Aquatic and Fisheries Science. University of Washington. Washington D.C.: Academic Press.

- Hardy, R.W. and Shearer, K.D. 1985. Effect of dietary calcium phosphate and zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 181-184
- Haylor, G.S., Beveridge, M.C.M. and Jauncey, K. 1988. Phosphorus nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus*. In: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K. and Macclean, J.L. (Eds.), The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, Department of Fisheries, Bangkok and ICLARM, Manila.
- Hille, S. (1982) A literature review of the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. Journal of Fish Biology 20: 535-569.
- Jahan, P., Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S. 2003. Improved Carp diets based on plant protein sources reduce environmental phosphorus loading. Fish. Sci. 69: 219-225.
- Jantrarat, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid *Clarias catfish* (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquaculture 127: 61-68.
- Johnson, J.A., Robert, C. and Summerfelt, C. 2000. Spray-dried blood cells as a partial replacement for fishmeal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. World Aquaculture Soc. 31: 96-104.
- Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 161: 335-342.
- Lee, G.F. 1973. Role of phosphorus in eutrophication and diffuse source control. Prog. Water Technol. 7: 111-128.
- Lee, K-J., Dabrowski, K., Blom, J.H., Bai, S.C. and Stromberg, P.C. 2002. A mixture of cottonseed meal, soybean meal and animal byproduct mixture as a fish meal substitute: Growth and tissue gossypol enantiomer in juvenile rainbow trout. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr./Z. Tierphysiol. Tierernaehr. Futtermittelkd. 86: 201-213.
- Lovell, R.T. 1978. Dietary phosphorus requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Trans. Am. Fish. Soc. 107: 617-621.
- Lovell, R.T. 1988. Nutritional and Feeding of Fish. Auburn, Alabama. Auburn University. 267 pages.
- Lovell, R.T. 1989. Nutrition and Feeding of Fish. New York. Van. Nostrand Reinhold, 260 pages.

- Mai, K., Zhang, C., Ai, Q., Duan, Q., Xu, W., Zhang, L., Liufu, Z. and Tan, B. 2006. Dietary phosphorus requirement of large yellow coraker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture* 251: 346-353.
- Mgbenka, B.O. and Ugwu, L.L.C. 2005. Aspects of mineral composition and growth rate of the hybrid African catfish fry fed inorganic phosphorus-supplemented diets. *Aquacult. Res.* 36: 479-485.
- NRC. (National Research Council). 1993. Nutrient Requirement of Fish. Washington DC: National Academy Press.
- Nordrum, S., Asgard, T., Shearer, K.D. and Arnessen, P. 1997. Availability of phosphorus in fish bone meal and inorganic salts to Atlantic salmon (*Salmo salar*) as determined by retention. *Aquaculture* 157: 51-61.
- Ogino, C. and Takeda, H. 1978. Requirements of dietary calcium and phosphorus in carp and rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 45: 1527-1523.
- Phromkunthong, W. And Udom, U. 2007. Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plant diets. *Songklanakalin J. Sci. Tech.* In press.
- Robinson, E.H. and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and feeding (channel catfish). *Developments in Aquaculture and Fisheries Science.* Washington D.C.: Academic Press. 165 pages.
- Robinson, E.H., Labomascus, D., Brown, P.B. and Linton, L. 1987. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. *Aquaculture* 64: 267-276.
- Rodehutschord, M. 1996. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diets. *J. Nutr.* 126:324-331.
- Robinson, E.H., Labomascus, D., Brown, P.B. and Linton, L. 1987. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. *Aquaculture* 64: 267-276.
- Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture* 221: 451-468.
- Sakamoto, S., and Yone, Y. 1978. Effect of dietary level on chemical composition of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44: 227 – 229.

- Sakamoto, S. and Yone, Y. 1980. A principal source of deposited lipid in phosphorus deficient red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 1227-1230.
- Sauer, D.M. and Haider, G. 1977. Enzyme activities in the serum of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson.: the effects of water temperature. J. Fish Biol. 11: 605-612.
- Shearer, K.D. and Hardy, R.W. 1987. Phosphorus deficiency in rainbow trout fed a diet containing deboned fillet scrap. Prog. Fish-Cult. 49: 192-197.
- Skonberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 157: 11-24.
- Sugiura, S.H., Hardy, R.W. and Roberts, R.J. 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish- a review. J. Fish Dis. 27: 255-265.
- Sugiura, S.H., Babbitt, J.K. Dong, F.M. and Hardy, R.W. 2000. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) Aquaculture Research 31: 585-593.
- Takeuchi, M. and Nakakzoe. 1981. Effect of dietary phosphorus on lipid content and its composition in carp. Bull. Jpn. J. Sci. Fish. 3: 347-352.
- Vielma, J., Koshela, J. and Ruohonen, K. 2002. Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) fed with graded levels of phosphorus. Aquaculture 212: 321-333.
- Vielma, J., Makinen, T., Ekholm, P. and Koskela, J. 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. Aquaculture 183: 349-362.
- Viola, S. and Arieli, Y. 1983. Evaluation of different grains as basic ingredients in complete feeds for carp and tilapia in intensive culture. Bamidgeh. 35: 38-43.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. and Ogino, C. 1980. The availability to *Tilapia niloticus* of phosphorus in white fish meal. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 46: 897-899.
- Watanabe, T., Satoh, S. and Takeuchi, T. 1988. Availability of minerals in fish meal to fish. Asian Fisheries Science 1: 175-195.
- Weerasinghe, V., Hardy, R.W. and Haard, N.F. 2001. An *in vitro* method to determine phosphorus digestibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) feed ingredients. Aquacult. Nutr. 7 : 1-9.

- Wilson, R.P., Robinson, E.H., Gatlin III, D.M. and Poe, W.E. 1982. Dietary phosphorus requirement of channel catfish. J. Nutr. 112: 1197-1202.
- Yang, S.D., Lin, T.S., Liu, F.G. and Liou, C.H. 2006. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*) Aquaculture 253: 592-601.
- Zeitoun, I.H., Halver, J.E., Ullrey, D.E. and Tack, P.I. 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerling. J. Fish. Res. Board Can. 30: 1867-1873.