



ความต้องการฟอสฟอรัสและแคลเซียมในอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ

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

Phosphorus and Calcium Requirements in the Diet of Sex- reversed Red Tilapia.

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

ณัฐธิดา มุกดา

Nattida Mukda

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Aquatic Science

Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

ผู้เขียน นางสาวณัฐธิดา มุกดา

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ตันตีกิตติ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....กิจการ สุภมาตย์.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.กิจการ สุภมาตย์)

.....กรรมการ
(ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

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

ชื่อผู้เขียน นางสาวณัฐธิดา มุกดา

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

ปีการศึกษา 2552

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟต $[\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})]$ เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และแคลเซียมคาร์บอเนต $[\text{CaCO}_3]$ เป็นแหล่งของแคลเซียม วางแผนการทดลองแบบแฟกตอเรียลแบบ 3×3 โดยศึกษา 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1 เป็นฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 3 ระดับ คือ 0.3, 0.7 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ และปัจจัยที่ 2 เป็นแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 3 ระดับ คือ 0.3, 0.6 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ แบ่งการทดลองเป็น 9 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นประมาณ 12 กรัม/ตัว จำนวน 20 ตัว/ซ้ำ ให้อาหารทดลองวันละ 2 มื้อ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกัน จากผลการศึกษาพบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารสูตรที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.7 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3, 0.6 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ ซึ่งเป็นระดับที่ให้การเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เป็นไปในทิศทางเดียวกับองค์ประกอบทางเคมีของซากปลา ขณะที่สูตรที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.9 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลในเชิงลบต่อการเจริญเติบโต เช่น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง มีฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาต่ำ และมีปริมาณฟอสฟอรัสในมูลสูง ขณะที่สูตรที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3, 0.6 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้มีโปรตีน ไขมันในตับ และไขมันที่สะสมในตัวปลาสูง แต่ปริมาณเถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมที่สะสมในตัวปลาต่ำ สำหรับการเสริมระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารสูงขึ้นตั้งแต่ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณไขมันที่สะสมในตัวปลา และตับปลาลดลง ปริมาณเถ้าในตัวปลาสูงขึ้น และปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่สะสมในตัวปลา กระดูกสันหลัง และเกล็ดปลามีระดับที่ใกล้เคียงกัน แต่สูงกว่าฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title Phosphorus and calcium requirements in the diet of sex- reversed red tilapia
(*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

Author Miss Nattida Mukda

Major Program Aquatic Science

Academic Year 2009

Abstract

A study was conducted to investigate the effects of dietary phosphorus and calcium on fingerling sex – reversed red tilapia. Interactions among dietary phosphorus and calcium were investigated by feeding a practical diets in a factorial arrangement to triplicate groups. Nine isoenergetic and isonitrogenous diets were formulated to contain 3 levels of available phosphorus (0.3%, 0.7% and 0.9%) and 3 levels of available calcium (0.3%, 0.6% and 0.9%). Fingerling sex - reversed red tilapia with an initial weight of 12.02 ± 0.03 g were fed to satiation for 8 weeks. The results showed that the sex – reverse red tilapia fed the diets containing 0.7% available phosphorus and 0.3%, 0.6% and 0.9% available calcium gave the best growth with high weight gain and high specific growth rate while feed conversion ratio of those treatments were low. Carcass compositions of final fish related with the growth response. However, fish fed diet containing 0.9% available phosphorus and 0.9% available calcium gave the worse reflect on growth with low weight gain but high feed conversion ratio. Besides, this treatment also gave low phosphorus accumulation in final fish while it gave high phosphorus content in feces. Fish fed diets containing 0.3% available phosphorus and 0.3%, 0.6% and 0.9% available calcium showed high protein and high lipid content in liver and whole fish but it showed low ash content. Besides, final fish of that treatment also gave low calcium and phosphorus accumulation. Fish fed diet supplement with the phosphorus higer than 0.7% gave the decrease fat content in whole fish and liver while it gave higher ash content compared with the others. Phosphorus and calcium accumulation in whole fish, bone and scale in this treatment were similar but it was higher than the 0.3% phosphorus supplement diet.

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
รายการตาราง	
รายการภาพ	
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1. ชีววิทยาปลานิลแดงแปลงเพศ	3
1.1 ปลานิลแดงแปลงเพศ	3
1.2 ลักษณะทั่วไปของปลานิลแดง	4
1.3 ชนิดและสายพันธุ์ของปลานิลแดง	6
1.4 การเตรียมลูกปลานิลแดงแปลงเพศ	8
2. ความต้องการสารอาหารในปลานิล	9
2.1 ความต้องการสารอาหารที่ให้พลังงาน	9
2.2 ความต้องการสารอาหารที่ไม่ให้พลังงาน	11
3. ความสำคัญของฟอสฟอรัสในปลา	12
4. ความสำคัญของแคลเซียมในปลา	15
5. บทบาทของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปลา	18
5.1 แหล่งที่มาของฟอสฟอรัสและแคลเซียม	20
5.2 การดูดซึมและการขับถ่ายฟอสฟอรัสและแคลเซียม	21
6. ความสัมพันธ์ของฟอสฟอรัสและแคลเซียมต่อวิตามินดี	22
7. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	24
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	25
1. วัสดุ	25
1.1 ปลาที่ใช้สำหรับการทดลอง	25
1.2 สารเคมี	25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1.3 อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นการทดลอง	25
2. อุปกรณ์	25
2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง	25
2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง	26
2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและตัวปลา	26
2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด	26
2.5 อุปกรณ์วิเคราะห์โครมิกออกไซด์ในอาหารและมูลปลาทดลอง	27
2.6 อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา	27
3. วิธีการทดลอง	27
3.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง	27
3.2 การเตรียมปลาทดลอง	27
3.3 การเตรียมอาหารทดลอง	28
3.4 ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลอง	29
3.5 แผนการทดลอง	34
3.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล	34
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล	40
3. ผลการทดลอง	41
3.1 พฤติกรรมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	41
3.2 การเจริญเติบโต	41
3.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยปลาต่อตัว	41
3.2.2 น้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย	43
3.2.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ	45
3.2.4 ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสลายอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ	47
3.2.5 ฟอสฟอรัสในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระจุกก้นหลังและมูลของปลานิลแดงแปลงเพศ	49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.6 แคลเซียมในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิลแดงแปลงเพศ	51
3.2.7 ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมของเอนไซม์ อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศ	54
3.2.8 คัชนี้ตับต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศ	56
3.2.9 ส่วนประกอบทางโภชนาการของตัวปลานิลแดงแปลงเพศ	57
3.2.10 ส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ	59
3.2.11 การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่จับที่ ฟอสฟอรัสที่จับที่ ทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่จับที่ในรูปของแข็ง และฟอสฟอรัสที่ จับที่ในรูปของสารละลาย ของปลานิลแดงแปลงเพศ	61
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	64
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	74
6. เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก	89
ภาคผนวก ข	97
ประวัติผู้เขียน	135

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. เปรียบเทียบความแตกต่างของปลานิลแดงและปลานิลธรรมดา	5
2. การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร	29
3. องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารในการทดลอง	31
4. ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร	32
5. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง	33
6. น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	42
7. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	44
8. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	46
9. สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสเฟตและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	48
10. ฟอสฟอรัสในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	50
11. แคลเซียมในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	53
12. ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	55
13. ดัชนีค้ำต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	56

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
14. ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	58
15. ส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	60
16. การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่จับที่ ฟอสฟอรัสที่จับทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่จับที่ในรูปแบบของแข็ง และฟอสฟอรัสที่จับที่ในรูปแบบของสารละลาย ของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	63

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของ กรดไฟติก	19

บทที่ 1

บทนำ

บทนำตั้งเรื่อง

ฟอสฟอรัสและแคลเซียมจัดว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญเนื่องจากปลามีความต้องการในปริมาณมาก (macro mineral) โดยมีหน้าที่สำคัญในการพัฒนาและรักษาระบบโครงร่างภายนอก รวมทั้งกระดูก และมีบทบาทในด้านสรีรวิทยาของร่างกาย รวมถึงการรักษาสมดุลกรด-ด่าง (NRC, 1993) ปลาสามารถนำฟอสฟอรัสและแคลเซียมจากแหล่งน้ำมาใช้ประโยชน์จากการดูดซึมผ่านทางผิวหนัง ครีบ และเหงือก โดยแร่ธาตุทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ซึ่งเป็นโครงสร้างของกระดูก ความต้องการแคลเซียมในปลาขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมีของน้ำ ระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร และความแตกต่างของชนิดของสัตว์น้ำ (Lall, 2002) โดยทั่วไปปลาได้รับแคลเซียมโดยการดูดซึมจากน้ำ และอาหาร (Lall, 2002) Robinson และคณะ (1986); (1987) รายงานว่าปลากดอเมริกกัน (channel catfish: *Ictalurus punctatus*) และปลานิล (Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*) มีความต้องการแคลเซียมอิสระในน้ำที่ระดับ 0.45 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าในน้ำทะเลมีปริมาณแคลเซียมไม่เพียงพอกับความต้องการของปลาเรดซีบรีม (red sea bream: *Pagrus major*) เนื่องจากมีความต้องการแคลเซียมจากอาหารที่ 0.34 เปอร์เซ็นต์ (Sakamoto and Yone, 1973; 1976) Hossain และ Furuichi (1999; 2000a; 2000b; 2000c) พบว่าการเสริมแคลเซียมในอาหารมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของปลากระบอก (mullet: *Liza haematocheile*), ปลาเจแปนนิช ฟลาวเดอ (Japanese flounder: *Paralichthys olivaceus*) และปลาสกอร์เปียน (scorpion fish: *Sebastes marmoratus*) แต่ไม่มีผลต่อปลาแบล็กซีบรีม (black sea bream: *Acanthopagrus schlegeli*) โดยการเพิ่มแคลเซียมในอาหารถือว่ามีความสำคัญเนื่องจากแคลเซียมในอาหารอาจเข้าไปทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุตัวอื่น เช่นฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสีอาจไปขัดขวางหรือเพิ่มการดูดซึมของธาตุอาหารดังกล่าว (Vielma and Lall, 1988a; Gatlin and Phillips, 1989) Nakamura (1982) รายงานว่าถ้าปริมาณแคลเซียมมากเกินไปจะยับยั้งการดูดซึมฟอสฟอรัสในปลาไน (common carp: *Cyprinus carpio*) ในแหล่งน้ำมีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำกว่า 0.1 ppm (Boyd *et al.*, 1983) ทำให้ปลาได้รับฟอสฟอรัสต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ในแหล่งน้ำ (NRC, 1983) ซึ่งไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงต้องใช้ฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลัก โดยความต้องการจะแตกต่างกันออกไปตามชนิด ขนาด อายุ และเพศ เช่น ลูกปลาแฮ็ดด็อก (haddock : *Melanogrammus aeglefinus* L.) ขนาดปลานี้มีความต้องการ

ฟอสฟอรัส 0.72 เปอร์เซ็นต์ (Roy and Lall, 2003) ลูกปลากดออเมริกันมีความต้องการฟอสฟอรัส 0.2 เปอร์เซ็นต์ (Eya and Lovell, 1997a) ปลาแรดคริม (red drum: *Sciaenops ocellatus*) มีความต้องการฟอสฟอรัส 0.86 เปอร์เซ็นต์ (Davis and Robinson, 1987) ปลานิลมีความต้องการฟอสฟอรัสอยู่ในช่วงระหว่าง 0.45–0.9 เปอร์เซ็นต์ (Robinson *et al.*, 1987; Lovell, 1988)

เนื่องจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ปล่อยน้ำทิ้งลงแหล่งน้ำ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และไนโตรเจน โดยฟอสฟอรัสเป็นตัวกลางสำคัญในการเกิดยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) (Hardy and Gatlin, 2002; Tacon and Forster, 2003) ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำและสะสมในตะกอนดินและแบคทีเรียได้ปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาอย่างช้าๆ ส่งผลทำให้สารอินทรีย์มีปริมาณมากทำให้ออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง (Gowen *et al.*, 1991 อ้างโดย Cho and Bureau, 2001) ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาสัดส่วนของแคลเซียม ฟอสฟอรัส และการสะสมของแร่ธาตุในระดับต่างๆ ในอาหารเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของแร่ธาตุทั้งสองดังกล่าวที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ

ตรวจเอกสาร

1. ชีววิทยาปลานิลแดงแปลงเพศ (sex-reversed red tilapia)

1.1 ปลานิลแดงแปลงเพศ

อนุกรมวิธานของปลานิลแดงแปลงเพศ จำแนกโดย พรรณศรี (2531) มีดังนี้

Phylum Vertebrata

Class Osteichthyes

Order Perciformes

Family Cichlidae

Genus *Oreochromis*

Species *niloticus* × *mossambicus*

ปลานิลเป็นปลาที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา เป็นปลาพื้นเมืองพบทั่วไปตามหนอง บึง และทะเลสาบ ของประเทศซูดาน ยูกันดา และทันกันยิกาของทวีปอเมริกากลางและได้จัดเป็นปลาที่นิยมบริโภคกันทั้งทวีป ปลานิลเป็นปลาที่สามารถขยายพันธุ์ได้ดีจึงพบแพร่กระจายทั่วภูมิภาคของโลก ปลานิลเป็นปลาที่ชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงที่เป็นแหล่งน้ำจืด แต่สามารถนำไปเลี้ยงได้ในบริเวณที่เป็นน้ำกร่อย เนื่องจากมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี ทนต่อกรดค้างอยู่ในช่วง 5.5-6.5 จะพบการตาย 10 เปอร์เซ็นต์ และถ้าความเป็นกรดค้างลดลงอยู่ในช่วงระหว่าง 3.5-4.5 ปลาจะตายหมด ทนความเค็มและการเปลี่ยนแปลงความเค็มสูงถึง 20 ส่วนในพันส่วน (ppt) และอุณหภูมิของการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างตั้งแต่ 8-42 องศาเซลเซียส ปลานิลแดงเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหารแต่ก่อนข้างกินสัตว์มากกว่า มีนิสัยก้าวร้าว โดยเฉพาะกับปลาที่มีขนาดเล็กกว่า รวมทั้งลูกปลาที่เริ่มแตกฝูง การกินอาหารสามารถกินได้ทั้งบนผิวน้ำ กลางน้ำ และก้นบ่อ โดยกินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivores) ซากอินทรีย์และอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยรวมทั้งแบคทีเรียและพืชน้ำชนิดต่างๆ (Buddington and Diamond, 1986) อาหารถูกบดให้เล็กลงจากฟันบริเวณคอหอย (pharyngeal teeth) ส่งต่อไปกระเพาะอาหารตอนต้นซึ่งมีความเป็นกรดมากกว่า 1.5 (Moyle and Cech Jr., 1982) ซึ่งสามารถย่อยอาหารจำพวกที่กล่าวมาแล้วข้างต้นได้ดี ปลานิลไม่มีกระเพาะแต่เหมือนปลากินเนื้อทั่วไป แต่มีเนื้อเยื่อที่มีโครงสร้างคล้ายกระเพาะสามารถหลั่งน้ำย่อยเพื่อลดความเป็นกรดค้างระหว่างการย่อย มีทางเดิน

อาหารยาวประมาณ 5-7 เท่าของลำตัวมีประโยชน์ในการย่อยและการดูดซึมอาหาร (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

สมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮิโตะแห่งประเทศญี่ปุ่น เมื่อครั้งดำรงตำแหน่งพระราชอิสริยยศเป็นมกุฎราชกุมาร ได้ทูลเกล้าถวายพันธุ์ปลานิลจำนวน 50 ตัว แต่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวเมื่อวันที่ 25 มีนาคม 2508 ซึ่งพระองค์ทรงโปรดเกล้าฯ ให้เพาะและขยายพันธุ์ปลาในพระราชวังสวนจิตรลดาและโปรดเกล้าพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่าปลานิล อีก 1 ปีต่อมาทรงพระราชทานลูกปลานิลขนาดเล็กที่เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ที่เลี้ยงให้แก่กรมประมงเพื่อนำไปเพาะขยายพันธุ์และส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยง (ยุพินท์, 2541) จากการแพร่ขยายพันธุ์ปลานิลในระยะหลังปรากฏมีลูกปลานิลจำนวนหนึ่งมีสีสันผิดไปจากเดิม คือ สีของลำตัวซึ่งปกติเป็นสีเขียวปนน้ำตาลดำได้เปลี่ยนเป็นสีขาวอมชมพู เหลือง ส้ม แดง ซึ่งเป็นปลาถูกผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลานิลแดงกับปลาหมอเทศ พบครั้งแรกที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อปี พ.ศ. 2511 (มานพ และคณะ, 2536) และสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีได้ทรงตั้งชื่อปลาชนิดนี้ว่า ปลานิลแดง ในปี พ.ศ. 2527 (พวรรณศรี, 2531) ดังนั้นปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยมีการศึกษาวิจัยครั้งแรกหลังปี พ.ศ. 2511 ซึ่งหลังจากนั้นในปี พ.ศ. 2530 ได้มีการตรวจสอบพันธุกรรมโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis) จากมหาวิทยาลัยสเตอร์ลิงและมหาวิทยาลัยฟิลิปปินส์ สรุปได้ว่าปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยเป็นปลาถูกผสมระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศโดยมีความถี่ของยีนปลานิลและปลาหมอเทศในอัตราส่วน 78 : 22 เปอร์เซนต์ (พวรรณศรี, 2531) ซึ่งสอดคล้องกับมานพ และคณะ (2536) กล่าวว่าปลานิลในประเทศไทยมีประวัติการศึกษาปลานิลและปลานิลแดงคือ ปลานิลที่เกิดขึ้นเป็นปลาถูกผสมระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศโดยการผสมข้ามสายพันธุ์ตามธรรมชาติซึ่งเกิดการรวมตัวระหว่างยีนของปลาทั้งสองชนิดในฤดูผสมพันธุ์เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมแบบใดแบบหนึ่งทำให้ปรากฏเป็นปลานิลแดง

1.2 ลักษณะทั่วไปของปลานิลแดง

ลักษณะลำตัวของปลานิลแดงมีความคล้ายคลึงกับปลานิลธรรมดา ต่างกันเฉพาะสีของลำตัว คือ ปลานิลแดงมีสีของลำตัวเป็นสีส้ม แดง ส้มเหลือง ชมพู บางตัวอาจมีเม็ดสี เช่น เม็ดสีดำ (melanin pigment) กระจายทั่วไปบริเวณลำตัว ครีบหลัง ครีบกัน ส่วนบริเวณครีบหางมักมีจุดสีส้มแดงเรียงกันเป็นแถวทำให้เห็นเป็นแถบส้มแดงมีลักษณะต่างจากปลานิลธรรมดา ซึ่งลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาลหรือเทาปนน้ำเงิน ลักษณะภายในที่เห็นความแตกต่างได้เด่นชัด คือ สีของผนังช่องท้องปลานิลแดงจะมีสีขาวเนื่องจากไม่มีเม็ดสีดำ และภายในช่องท้องของปลานิลแดงมีปริมาณไขมันมากกว่าปลานิลธรรมดา (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

ปลานิลแดงมีรูปร่างเหมือนปลานิลธรรมดา แต่มีริมฝีปากเฉียงขึ้นบน ครีบหางไม่มีลายเส้นตามขวาง นัยน์ตาของปลานิลแดงมีหลายแบบ คือ ตาสีแดง วงรอบตาสีเหลือง เป็นต้น มีเกล็ด 3 แถวบริเวณแก้ม ครีบหลังมี 1 อัน ประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-17 อัน ก้านครีบอ่อน 12-14 อัน ครีบอกมีเฉพาะก้านครีบอ่อน 13 อัน ครีบท้องมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 5 อัน ครีบกันมีก้านครีบแข็ง 3 อัน ก้านครีบอ่อน 9-11 อัน และครีบหางมีก้านครีบอ่อน 16-18 อัน เกล็ดบนเส้นข้างลำตัว 33-38 เกล็ด และเกล็ดบริเวณคอดหาง 18-19 เกล็ด (ปกรณ, 2527; มานพ และคณะ, 2536) ดังแสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างของปลานิลแดงและปลานิลธรรมดาดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของปลานิลแดงและปลานิลธรรมดา

องค์ประกอบทางสรีระวิทยา	ปลานิลแดง	ปลานิลธรรมดา
สีของตัวปลา	ส้ม, ส้มแดง, ส้มเหลือง	น้ำตาล, เขียวปนน้ำตาลเทา
สีของตา	แดง, ส้ม, เหลือง	ดำ
ความยาวลำตัว/ความยาวหัว	3.64-4.15	3.52-3.76
ความกว้างลำตัว/ความกว้างหัว	1.05-1.23	0.97-1.14
จำนวนครีบหลัง	XVI-XVII, 12-14	XVI-XVII, 12-13
จำนวนครีบกัน	III, 9-11	III, 9-10
จำนวนครีบท้อง	I, 5	I, 5
จำนวนเกล็ดเส้นข้างลำตัว	33-38	33-39
จำนวนเกล็ดเหนือเส้นข้างลำตัว	4-5	4-5
จำนวนเกล็ดใต้เส้นข้างลำตัว	10-11	11-12
สีของไข่	เหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน
สีผนังช่องท้อง	ขาว	ดำ
นิสัยการกินอาหาร	omnivorous	herbivorous

ที่มา : ปกรณ (2527)

1.3 ชนิดและสายพันธุ์ของปลานิลแดง

1.3.1 ชนิดปลานิล

ปลานิลตระกูลปลานิลที่นำเข้าสู่ในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2492 ถึง 2523 มีทั้งหมด 4 ชนิด

1.3.1.1 *Oreochromis mossambicus* (Mozambique mouth breeder) มีชื่อภาษาไทยว่า ปลาหมอเทศ เป็นปลาชนิดแรกที่ถูกนำมาจากป็นัง ประเทศมาเลเซีย นำเข้าสู่ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2492 (สันทนา และทัศนีย์, 2525) สามารถทนอยู่ในช่วงความเค็มกว้าง คือ ตั้งแต่ น้ำจืดจนกระทั่งถึงน้ำกร่อยมีบทบาทสำคัญในการควบคุมพรรณไม้น้ำในบ่อ (บันลือ, 2540)

1.3.1.2 *Sarotherondon melanotheron* หรือปลาหมอเทศข้างลาย เป็นปลาที่นำเข้ามาจากประเทศเบลเยียมเข้าสู่ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2498 ชอบกินพืชเป็นอาหาร เจริญเติบโตช้า

1.3.1.3 *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia Egyptian strain) เป็นปลาที่สมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮิโตะทูลเกล้าถวายดังกล่าวข้างต้น

1.3.1.4 *Oreochromis aureus* (Blue tilapia) เป็นปลาที่นำมาจากประเทศอิสราเอล เข้าสู่ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2523 มีชื่อว่าปลานิลอิสราเอล เป็นปลาที่กินอาหารทุกชนิด หากินที่พื้นก้นบ่อ ปลาชนิดนี้ นำเข้ามาเพื่อใช้ผลิตปลานิลลูกผสม โดยนำไปผสมกับแม่ปลานิล (*O. niloticus*) (เพ็ญพรรณ, 2543)

1.3.2 สายพันธุ์ปลานิล

สายพันธุ์ในตระกูลปลานิลมีทั้งหมด 4 ชนิด โดยเฉพาะปลานิลที่ได้รับการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์จากสถาบันพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง และหน่วยงานของเอกชนทำให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ขึ้นมาดังนี้

1.3.2.1 สายพันธุ์จิตรลดา 1 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับปรุงมาจากปลานิลสายพันธุ์แบบคัดเลือกภายในครอบครัว เป็นสายพันธุ์ใหม่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าสายพันธุ์เดิมประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์

1.3.2.2 สายพันธุ์จิตรลดา 2 (Genetically male tilapia; GMT) เป็นปลานิลที่พัฒนาพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา โดยการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมในพ่อแม่พันธุ์ให้มีโครโมโซมเพศเป็น YY เรียกว่า YY-Male หรือ ปลานิลซูเปอร์แมล เมื่อนำพ่อแม่พันธุ์ดังกล่าวไปผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ปลานิลทั่วไปจะได้ลูกปลานิลเพศผู้ที่เรียกว่า ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 ที่มีลักษณะเด่นคือเป็นเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพศ XY โดยลูกปลาที่ได้จะให้ผลผลิตต่อไร่ที่สูงกว่า

1.3.2.3 สายพันธุ์จิตรลดา 3 (Genetically improved farmed tilapia line; GIFT) เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากการนำปลานิลพันธุ์ผสมกลุ่มต่างๆ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาและปลานิลสายพันธุ์อื่นๆ อีก 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์ อียิปต์ กานา เคนยา เซเนกัล สิงคโปร์ อิสลาเอล และไต้หวัน ซึ่งมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และมีอัตราการรอดตายในสภาพแวดล้อมการเลี้ยงต่างๆ ไปสร้างเป็นประชากรพื้นฐานต่อโดยวิธีคัดเลือกครอบครัวร่วมกับคุณลักษณะภายในครอบครัวปลานิลชั่วอายุที่ 1-5 ดำเนินการปรับปรุงสายพันธุ์โดยหน่วยงาน International Center for Living Aquatic Resource Management (ICLARM) ของประเทศฟิลิปปินส์ จากนั้นจึงนำลูกปลาชั่วอายุที่ 5 เข้ามาในประเทศไทยในปี 2538 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำจึงดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ปลาดังกล่าวต่ออีก 2 ชั่วอายุ และเรียกว่า ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 ปลานิลสายพันธุ์นี้มีลักษณะเด่นคือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีเหลืองนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี เจริญเติบโตได้ขนาด 3-4 ตัวต่อกิโลกรัม ภายใน 6-8 เดือน ผลผลิตสูงกว่าปลานิลทั่วไปถึง 40 เปอร์เซ็นต์

1.3.2.4 ปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยเป็นลูกผสมระหว่างปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) มีลักษณะของปลานิลและปลาหมอเทศรวมกัน คือปากเฉียงขึ้นคล้ายปลาหมอเทศสามารถเลี้ยงได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อยโดยมีความทนทานต่อความเค็มได้ระหว่าง 11 ถึง 25 พีพีที (พรณศรี, 2531)

1.3.2.5 สายพันธุ์ซีพีเป็นปลานิลสายพันธุ์ที่บริษัทเจริญโภคภัณฑ์ (ซีพี) ทำการปรับปรุงพันธุ์โดยได้ปลาที่มีลำตัวกว้างและหนา สามารถทนทานต่อความเค็มได้ ปัจจุบันปลานิลสายพันธุ์นี้ถูกนำมาเลี้ยงรวมในนาุ้งกุลาดำระบบเปิด เพื่อทำหน้าที่กำจัดพรรณไม้น้ำ การเลี้ยงปลานิลในน้ำเค็มหรือน้ำทะเลเล็มข้อดี คือ ปลาที่เลี้ยงจะไม่ค่อยเป็นโรคจึงไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีกำจัดโรค นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่มีเนื้อคุณภาพสูงรสชาติใกล้เคียงกับปลาทะเล (ยุพินทร์, 2541)

1.3.2.6 สายพันธุ์ทับทิมเป็นปลานิลแดงที่บริษัทเจริญโภคภัณฑ์ (ซีพี) ทำการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาให้มีความสามารถในการกินอาหาร จึงมีการเจริญเติบโตเร็ว และสามารถทนทานต่อความเค็มได้สูงถึง 30 พีพีที นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเพียง 3 เดือน

1.4 การเตรียมลูกปลานิลแดงแปลงเพศ

ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลแดงในเชิงพาณิชย์นิยมเลี้ยงเฉพาะเพศผู้เนื่องจากการเลี้ยงร่วมกันระหว่างเพศผู้และเพศเมียมักมีความหนาแน่นของลูกปลาและขนาดของปลาเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตเพราะปลานิลเพศเมียสามารถสืบพันธุ์วางไข่ได้ตั้งแต่อายุ 2 เดือน ทำให้การเลี้ยงปลามีความหนาแน่นอีกทั้งปลานิลแดงเพศเมียจะสูญเสียพลังงานไปกับการสร้างไข่และอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนโดยอมลูกปลาไว้ในปากประมาณ 10 วัน ทำให้แม่ปลาไม่กินอาหารและน้ำหนักลดลง ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มผลผลิตคือการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ทั้งหมดเพราะมีขนาดใหญ่และมีขนาดใกล้เคียงกันเมื่อจับขาย (ศิริ, 2543) การเตรียมลูกปลานิลเพศผู้มีหลายวิธีคือ

1.4.1 การคัดเลือกจากการดูลักษณะภายนอก (manual sexing) วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมเพราะผู้คัดเลือกต้องมีความชำนาญและจำนวนปลาต้องมากพอเนื่องจากสภาพปกติอัตราส่วนของปลาเพศผู้และเพศเมียมีสัดส่วนใกล้เคียงกันอีกทั้งขนาดปลาสามารถเห็นความแตกต่างระหว่างเพศได้ชัดเจนเมื่อมีความยาวของลำตัวตั้งแต่ 12 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 50 กรัมขึ้นไป

1.4.2 การผสมข้ามพันธุ์ (hybridization) วิธีผสมข้ามพันธุ์ข้ามสกุล (genus) และชนิด (species) ในปลาหลายชนิด สามารถเกิดลูกทั้งหมดเป็นเพศเดียวกันได้สำหรับปลานิลการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง *O. niloticus* × *O. aureus* จะได้ลูกผสมที่มีเพศผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการปฏิบัติในประเทศอิสราเอล

1.4.3 การใช้ฮอร์โมนเพศ การแปลงเพศปลาโดยให้กินอาหารผสมฮอร์โมน 17 เมทิลเทสโทสเตอโรน (17-methyltestosterone หรือ 17-MT) ความเข้มข้น 40-60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 28-30 วัน แต่ขั้นตอนการผลิตลูกปลาแปลงเพศเหล่านี้ค่อนข้างยุ่งยากต้องมีความรู้ความชำนาญอย่างเพียงพออีกทั้งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ผลิตลูกพันธุ์ปลานอกจากนี้ฮอร์โมน 17 เมทิลเทสโทสเตอโรนต้องนำเข้าจากต่างประเทศ มีราคาแพงและเสื่อมคุณภาพได้ง่ายโดยเฉพาะภูมิอากาศร้อน ทำให้ต้นทุนการผลิตปลาเพศผู้ในลักษณะนี้มีราคาสูงและประสิทธิภาพการผลิตปลาเพศผู้ไม่สม่ำเสมอ หากลูกปลากินอาหารผสมฮอร์โมนไม่ครบถ้วนทำให้ผลิตเพศผู้ไม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ฮอร์โมน 17 เมทิลเทสโทสเตอโรน ไม่มีผลตกค้างในเนื้อปลา

1.4.4 การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม (indirect monosex production) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะผลิตปลานิลเพศผู้ทั้งหมดโดยหลีกเลี่ยงฮอร์โมนที่อาจตกค้างในเนื้อปลาและเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหาของประสิทธิภาพการผลิตปลาเพศผู้ไม่สม่ำเสมอ การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อมได้จากการผลิตปลานิลซูเปอร์เมด (supermale หรือ YY-male) แล้วนำพ่อแม่ซูเปอร์เมดไปผสมกับแม่พันธุ์ปลานิลปกติได้ลูกปลาที่เป็นเพศผู้ทั้งหมดเนื่องจากลูกปลาเพศผู้โดยพันธุกรรม

(genetically male tilapia, GMT) และมีโครโมโซมเพศเป็น XY จึงนิยมเรียกว่า ปลานิลเพศผู้ GMT ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1.4.4.1 รวบรวมลูกปลาจากปากแม่ปลามาอนุบาลจนไข่แดงยุบและเริ่มกินอาหาร

1.4.4.2 เตรียมอาหารผสมฮอร์โมนไคเอทิลสเตโรลอัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ละลายฮอร์โมนในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ผสมกับอาหารให้ลูกปลากินเป็นระยะเวลา 28 วัน ได้ลูกปลาที่เป็นเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น 2 แบบ คือ XX และ XY

1.4.4.3 ตรวจสอบเพศเมียตัวใดที่มีโครโมโซม XY โดยเลี้ยงจนเป็นแม่พันธุ์แล้วนำมาผสมกับปลาเพศผู้ปกติที่มีโครโมโซมเป็น XY ถ้ามีแม่ปลาตัวใดผลิตลูกปลาที่มีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 3 ต่อ 1 แสดงว่ามีโครโมโซมเป็น XY

1.4.4.4 นำเพศเมียที่มีโครโมโซม XY ดังกล่าวมาผสมกับปลานิลเพศผู้ปกติจะได้ลูกปลาเพศเมียต่อเพศผู้เท่ากับ 1 ต่อ 3 โดยในลูกปลาเพศผู้มี 1 ส่วนที่มีโครโมโซมเพศเป็น YY

1.4.4.5 ตรวจสอบปลาเพศผู้ตัวใดที่มีโครโมโซมเพศ YY โดยนำไปผสมกับปลาเพศเมียปกติ ถ้าปลาตัวใดผลิตลูกปลาที่เป็นเพศผู้ทั้งหมดแสดงว่ามีโครโมโซมเป็น YY แสดงว่าเป็นปลานิลซูเปอร์เมลเมื่อนำมาผสมกับปลาเพศเมียปกติได้ปลาเพศผู้ GMT หรือที่เรียกว่าเป็นปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ GMT ให้ผลผลิตสูงกว่าการเลี้ยงปลานิลรวมเพศ 28.25 เปอร์เซ็นต์

2. ความต้องการสารอาหารในปลานิล

2.1 ความต้องการสารอาหารที่ให้พลังงาน

ปลามีความต้องการพลังงานเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต ปลาได้รับพลังงานจากอาหารที่กินเข้าไปและสารอาหารที่ให้พลังงานประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยปลามีความต้องการโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตมากกว่าสารอาหารชนิดอื่นๆ (Liebert *et al.*, 2006) ความต้องการโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ คือ ความต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) และไม่จำเป็น (non-essential amino acid) ในสัดส่วนที่สมดุล (Tacon, 1990; Wilson, 2002) ระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นเพียงพอต่อความต้องการและในขณะเดียวกันมีกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตและดำรงชีพ (Wilson, 1989; 2002) ตลอดจนการให้อาหารแก่สัตว์ที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตความต้องการโปรตีนของปลานั้นเปลี่ยนแปลงไปตามอายุ และขนาดของปลา เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตที่ลดน้อยลง โดยลูกปลาวัยอ่อนจะมี

ความต้องการโปรตีนสูงกว่าปลาวัยรุ่น และปลาเต็มวัย (El-Sayed and Kawanna, 2008) เช่น ความต้องการโปรตีนในปลานิลแต่ละวัยมีความแตกต่างกัน เช่น ลูกปลาน้ำหนักต่ำกว่า 1 กรัม มีความต้องการโปรตีน 40 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ปลาวัยอ่อนขนาด 1-10 กรัม มีความต้องการโปรตีน 30 ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ปลาวัยรุ่นขนาด 10 ถึง 30 กรัม มีความต้องการโปรตีน 28 ถึง 35 เปอร์เซ็นต์ ปลาเต็มวัยขนาดมากกว่า 30 กรัม มีความต้องการโปรตีน 28 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในกรณีที่เลี้ยงในบ่อดินนั้นปลานิลมีความต้องการโปรตีนอยู่ในช่วง 20 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ เพราะในบ่อดินมีอาหารธรรมชาติซึ่งมีโปรตีนสูง (Jauncey, 1982; Pan *et al.*, 2003; Yong-Sulem *et al.*, 2006) ถ้าในอาหารมีระดับของพลังงานที่มาจากไขมันและคาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำก็จะใช้พลังงานจากโปรตีน ทำให้โปรตีนที่มีในอาหารถูกนำไปใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงานแทนที่จะนำมาใช้เพื่อการเจริญเติบโต (protein sparing effect) (Wilson, 2002) Sargent และคณะ (2002) กล่าวว่าโดยทั่วไปความต้องการไขมันที่ระดับ 10–20 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารเป็นระดับที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลา ซึ่งเป็นระดับที่ปลาสามารถใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตได้ดี และไม่เกิดการสะสมของไขมันส่วนเกิน (Sargent *et al.*, 2002; Bahurmiz and Ng, 2007; Ng and Bahurmiz, 2009) โดยระดับที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำแต่ละชนิดแตกต่างกันและขึ้นอยู่กับระดับของโปรตีนในอาหาร สำหรับในปลาน้ำจืดนั้นเนื่องจากสามารถเปลี่ยน 18:3n-3 เป็น 20:5n-3 และ 22:6n-3 ได้ ปลาน้ำจืดส่วนใหญ่จึงต้องการ 18:3n-3 โดยบางชนิดต้องการกรดไขมันทั้ง n-3 และ n-6 ขณะที่บางชนิดต้องการกรดไขมัน 18:2n-6 เพียงชนิดเดียว เช่น ปลานิลสามารถใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันข้าวโพดจะมีกรดไขมันลิโนลิอิก (18:2n-6) ในปริมาณสูง Tran-Duy และคณะ (2008) กล่าวว่าสำหรับการย่อยคาร์โบไฮเดรตนั้นเนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลของแป้งเปลี่ยนแปลงช่วยทำให้พันธะที่มีความซับซ้อนถูกทำลาย ทำให้เอนไซม์ย่อยได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้แป้งดิบอาจจับตัวกับเอนไซม์ที่ย่อยแป้งบางส่วนทำให้เอนไซม์ทำงานได้ไม่เต็มที่ แต่ในแป้งสุกไม่เกิดการจับตัวกับเอนไซม์ทำให้ปลาย่อยแป้งได้ดีขึ้น (Furuichi and Yone, 1980; Shiau and Peng, 1993; Brauge *et al.*, 1994; Peragon *et al.*, 1999; Ali and Al-Asgah, 2001; Keshavanath *et al.*, 2002; Tran-Duy *et al.*, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับ Kenan และ Yasar (2005) กล่าวว่าการใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งของพลังงานทดแทนโปรตีนก็มีขีดจำกัดสำหรับในปลากินพืชนั้นจะใช้คาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่าปลากินเนื้อจึงสามารถใช้ในระดับที่สูงกว่าได้ โดยอาจใส่ได้มากถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร เช่น ในปลานิลที่กินอาหารที่มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และมีแป้งมันสำปะหลัง 30 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีใกล้เคียงกับปลานิลที่กินอาหารที่มีโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ แต่มีแป้งมันสำปะหลัง 10 เปอร์เซ็นต์

2.2 ความต้องการสารอาหารที่ไม่ให้พลังงาน

การศึกษาวิตามินและแร่ธาตุเป็นสารอนินทรีย์ที่ร่างกายต้องการเพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต การดำรงชีพให้เป็นปกติ ซึ่งทั้งวิตามินและแร่ธาตุเป็นสารอาหารที่ไม่ให้พลังงานและมีข้อจำกัด คือ ปลามีความต้องการวิตามินและแร่ธาตุในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารที่ให้พลังงาน ซึ่งจะกล่าวถึงการใช้แร่ธาตุในปลาเพราะปลาสามารถแลกเปลี่ยนแร่ธาตุในน้ำผ่านทางเหงือก ผิวหนัง และอาหาร อย่างไรก็ตามอัตราการดูดซึมแร่ธาตุของปลาทางเหงือกขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด ขนาดของปลา อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และปริมาณแร่ธาตุในน้ำ (El-Sayed and Kawanna, 2008) Shiau (2002); Lin และคณะ (2008) กล่าวว่าการศึกษาความต้องการวิตามินของแร่ธาตุที่เหมาะสมต่อความต้องการของปลานั้นทำได้ยาก โดยปกติจะทดสอบด้วยอาหารสังเคราะห์ เช่น เลือกลงใช้น้ำมันปลาหรือน้ำมันพืช เคอทริน โปรตีนที่มาจากการใช้กรดอะมิโนล้วนๆ ซึ่งสามารถควบคุมระดับของสารอาหารได้ดีกว่าการใช้แหล่งโปรตีนจากธรรมชาติเพราะโปรตีนจากธรรมชาตินั้นมีกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของวัตถุดิบ ดังนั้นการศึกษาความต้องการแร่ธาตุจึงเป็นการทดสอบที่มีค่าใช้จ่ายสูง ซึ่งปลาที่มีความต้องการสารอาหารที่ไม่ให้พลังงานเพื่อเป็นองค์ประกอบของร่างกาย ช่วยรักษาความสมดุลของกรด-ด่างในร่างกายช่วยควบคุมแร่ธาตุภายในร่างกาย ช่วยการทำงานของระบบหายใจ ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และฮอร์โมน กระบวนการสร้างพลาสมา และสร้างกระดูก Neves และคณะ (2009) กล่าวว่าการศึกษาความต้องการวิตามินในปลานิลนั้นค่อนข้างมีจำกัดเนื่องจากในทางเดินอาหารของปลานิลมีเอนไซม์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 และอินโนซิทอลได้ นอกจากนี้แพลงก์ตอนพืชซึ่งเป็นอาหารหลักของปลานิลก็เป็นแหล่งของวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และไบโอติน เป็นต้น ส่วนการศึกษาแร่ธาตุของ Halver และ Hardy (2002) พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแร่ธาตุและระบบการทำงานในกระบวนการต่างๆ ของร่างกาย รวมถึงการเจริญเติบโต กล่าวคือ เมื่อปลาได้รับแร่ธาตุไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายอาจมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง หรืออาจแสดงความผิดปกติของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย เมื่อปลาได้รับแร่ธาตุที่เพียงพอต่อความต้องการมีผลให้ปลาสามารถเจริญเติบโตได้ดี และถ้าได้รับแร่ธาตุในระดับที่เกินความต้องการของร่างกาย หรือมีการสะสมของแร่ธาตุในร่างกายในระดับสูงก็ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย หรืออาจเป็นอันตรายต่อตัวปลาได้ ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับผลการขาดแร่ธาตุในปลานั้นมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง (Shiau, 2002; Lin *et al.*, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Roy และ Lall (2003) ในปลาเห็ดดอกที่ขาด แร่ธาตุจำพวกฟอสฟอรัสส่งผลให้มีการเจริญเติบโตช้า การใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่ำ ความอยากอาหารลดลง โดยทำให้มีการสะสมแคลเซียม แมกนีเซียมและฟอสฟอรัสในเกล็ด กระดูกปิดเหงือก และกระดูกสันหลังมีปริมาณต่ำกว่าปกติ ซึ่งส่งผลถึงองค์ประกอบทางโภชนาการของซากอีกด้วย

(Robinson *et al.*, 1984; Rodehutsord, 1996; Halver and Hardy 2002; Jahan *et al.*, 2003) พบว่าในกลุ่มปลาการ์ฟที่ขาดไดแคลเซียมฟอสเฟต (dicalcium phosphate) ทำให้กระดูกกล่องสมอง (cranium) ฟัน กระดูกครีบอก และกระดูกครีบกางเกิดการคดงอตัว (deformity) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Ye และคณะ (2006) กล่าวว่าการศึกษาผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในปลากระรังวัยรุ่น โดยใช้ casein และ gelatin เป็นแหล่งของโปรตีน โดยไม่เสริมฟอสฟอรัสในอาหารซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความอยากกินอาหาร และปริมาณเถ้าลดลง การสะสมของแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ในเกล็ดและกระดูกเพิ่มขึ้น ตับมีค่าโปรตีนต่ำ และมีไขมันสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น แต่การเสริมแคลเซียมเกินความต้องการและเสริมฟอสฟอรัสในระดับปกติให้ผลในทางลบต่อการสะสมแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสีในเกล็ดน้อยลง และส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Paul และคณะ (2004) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสและความเหมาะสมของสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสระยะปลาน้ำในปลา *Cirrhinus mrigala* โดยการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อจะมีความเหมาะสมเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสมีค่าเท่ากับ 1:4(0.19:0.75) นอกจากนี้มีผลให้ระดับโปรตีน ไขมัน และเปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระดับของฟอสฟอรัสสูงขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chavez-Sanchez และคณะ (2000) พบว่า ปลา American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) ในสภาวะขาดฟอสฟอรัสอาจส่งผลให้มีการเจริญเติบโต ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูกลดลง และการสะสมของไขมันในตัวเพิ่มขึ้น การเสริมระดับแคลเซียมและฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นส่งผลให้การเจริญเติบโตและการสะสมแร่ธาตุในกระดูกเพิ่มขึ้น ซึ่งมีสัดส่วนระหว่างฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของปลา รวมทั้งลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม (Gowen *et al.*, 1991 อ้างโดย Cho and Bureau, 2001; Amirkolaie *et al.*, 2005; Abdolsamad *et al.*, 2006)

3. ความสำคัญของฟอสฟอรัสในปลา

ฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุหนึ่งที่ปลาต้องการในปริมาณมาก ฟอสฟอรัสส่วนมากพบในกระดูกและเกล็ดของปลารวมกันประมาณ 85 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ของฟอสฟอรัสทั้งหมดที่มีในร่างกาย โดยฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ฟอสเฟตทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดอะมิโน ช่วยในการเจริญเติบโต รักษาสมดุลแร่ธาตุภายในร่างกาย เป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และสารพันธุกรรมต่างๆ (Lall, 2002) โดยปลาน้ำจืดมีความต้องการฟอสฟอรัสสูงกว่าปลาทะเลเนื่องจากนำไปใช้รักษาสมดุลแร่ธาตุภายในร่างกายเพราะปลาน้ำจืดขับฟอสฟอรัสออกจากร่างกายในรูป

ฟอสเฟตที่อยู่ในปัสสาวะ (urinary) มากกว่าปลาทะเล (Chester Jones *et al.*, 1969 อ้างโดย Lall, 2002) Davis และ Gatlin (1991) กล่าวว่าปลาที่มีอาการขาดฟอสฟอรัส เช่น ปลาหมออเมริกัน ปลา กะพงขาว (seabass: *Lates calcarifer*) และปลานิลพบว่ามีการเจริญเติบโตช้า ประสิทธิภาพการใช้ อาหารต่ำ ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส เถ้าของร่างกาย ปริมาณฮีมาโตคริต และฟอสเฟตในเลือด ลดลง (Andrews *et al.*, 1973; Wilson *et al.*, 1982) แหล่งของฟอสฟอรัสที่ปลาได้รับมาจาก 2 แหล่ง คือ ฟอสฟอรัสที่ละลายในน้ำ เป็นฟอสฟอรัสที่สัตว์น้ำนำไปใช้ประโยชน์ได้จำกัด เนื่องจากมี ปริมาณต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ppm) ทำให้สัตว์น้ำได้รับฟอสฟอรัสจากน้ำน้อยมาก คือ ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสที่ได้รับจากอาหาร (NRC, 1993) และฟอสฟอรัสในอาหาร ส่วนใหญ่ได้จากวัตถุดิบพืชและวัตถุดิบสัตว์ซึ่งมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงแต่อยู่ในรูปที่ปลาสามารถ ย่อยและดูดซึมไปใช้ได้น้อย เช่น ปลาป่นมีฟอสฟอรัสบางส่วนที่มีในกระดูกของปลารวมกับ แคลเซียมได้เป็นสารประกอบที่เรียกว่า ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) หรือ ไตรแคลเซียม ฟอสเฟต (tricalciumphosphate) ซึ่งเป็น โครงสร้างของกระดูกและเกล็ด (Jobling, 1994) และจาก วัตถุดิบพืช เช่น รำ กากถั่วเหลือง ปลาไม่สามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด กล่าวคือ มากกว่า 2 ใน 3 ของฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของกรดไฟติก พบว่าวัตถุดิบจากพืชที่ผ่านการอัดน้ำมัน หรือผ่านอุณหภูมิสูงประมาณ 150 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้และดูดซึม ฟอสฟอรัสในปลาเรนโบว์เทราท์ได้ Ogino และ Takeda (1976) ได้ศึกษาการเสริมอนินทรีย์ ฟอสเฟตลงในอาหารเพื่อให้มีปริมาณฟอสฟอรัสเพียงพอกับความต้องการของปลาโดยทั่วไปปลา มี ความต้องการฟอสฟอรัสแตกต่างกันออกไปตามชนิด ขนาด อายุ และเพศ โดยปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout: *Oncorhynchus mykiss*) มีความต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.7 ถึง 0.8 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารทั้งหมด จากการศึกษาของ Wilson และคณะ (1982) รายงานว่า ปลาหมออเมริกันต้องการ ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลานิล (blue tilapia, *O. aureus*) ต้องการ ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ *O. niloticus* ต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.46 เปอร์เซ็นต์ (Haylor *et al.*, 1988) และปลานิลแดงแปลงเพศมีความต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ ประโยชน์ได้ 0.76 เปอร์เซ็นต์ (Phromkunthong and Udom, 2008)

วุฒิพร และอัจฉริยา (2548) ศึกษาผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่าสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ เหมาะสมที่สุดของการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศ คือ สัดส่วนที่ 1:3 และ พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารทดลองที่มีปริมาณของ โปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชทุกสัดส่วนมีผลทำให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดี ขึ้น

วุฒิพร และคณะ (2548) ศึกษาผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลาดุกพันธุ์ผสม (channel catfish: *Ictalurus punctatus*) พบว่าการเสริมไฟเตส 500 ยูนิต/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับอื่น โดยให้ผลเช่นเดียวกับการเสริมฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟต dicalcium phosphate (DCP) ที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสและไดแคลเซียมฟอสเฟตมีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวปลา และกระดูกมีค่าสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างขององค์ประกอบเลือด ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และโปรตีนในพลาสมาของปลาที่ได้รับอาหารดังกล่าว

Sugiura และคณะ (2001) ศึกษาการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ ที่มีกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบพื้นฐานช่วยให้สามารถดูดซึมไนโตรเจนจากโปรตีนฟอสฟอรัส แคลเซียม แมงกานีส ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม สตรอมเซียม และสังกะสีเพิ่มขึ้น โดยการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 4,000 ยูนิต/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มการดูดซึมฟอสฟอรัสจาก 27 เปอร์เซ็นต์ เป็น 90 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทางการค้า เพราะมีฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งประมาณ 95-98 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ปริมาณของเสียที่ถูกขับทิ้งออกมาอยู่ในรูปของสารอินทรีย์และฟอสฟอรัสลดลง

Roy และ Lall (2003) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสในเชิงปริมาณของปลาเฮ็ดดอก โดยศึกษาการขับถ่าย การนำไปใช้ประโยชน์ และการขาดฟอสฟอรัสในปลาเฮ็ดดอก พบว่าการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เข้าในกระดูกสันหลังและกระดูกปิดเหงือก และการขับถ่ายฟอสฟอรัสในรูปปัสสาวะมีผลในเชิงบวกซึ่งสัมพันธ์กับระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร ถ้าจากกระดูกสันหลังเพิ่มจาก 44.5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 56.5 เปอร์เซ็นต์ และถ้าในกระดูกปิดเหงือกเพิ่มจาก 31.4 เปอร์เซ็นต์ เป็น 48.2 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดลองพบว่าระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เหมาะสม คือ 0.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพลาสมาและการขับถ่ายฟอสฟอรัสในรูปปัสสาวะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น สำหรับความสามารถในการใช้อินทรีย์ฟอสเฟตอยู่ที่ 43.2 เปอร์เซ็นต์ การขาดฟอสฟอรัสส่งผลให้การเจริญเติบโตและแร่ธาตุในกระดูกลดลง กระดูกสันหลังผิดปกติ และไขมันในตัวเพิ่มขึ้น

Tudkaew และคณะ (2008) ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่มีปลาป่นระดับต่ำในสูตรอาหารเพื่อการเจริญเติบโต และการใช้ฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยมีสูตรอาหารที่ไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตสและอินทรีย์ฟอสเฟต การเสริมเอนไซม์ไฟเตส การเสริมอินทรีย์ฟอสเฟต และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและอินทรีย์ฟอสเฟต ซึ่งมีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ต่ำกว่าความต้องการและมีฟอสฟอรัสรวมทั้งหมดเพียงพอต่อความต้องการของปลานิลหลังจากเลี้ยง

ไปได้ 8 สัปดาห์ พบว่าการย่อยฟอสฟอรัสและการสะสมของฟอสฟอรัสสูงในสูตรอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตและสูตรควบคุม ดังนั้นสรุปได้ว่าเอนไซม์ไฟเตสไปเพิ่มการย่อยฟอสฟอรัส และไปลดการใช้อินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารเพื่อลดการปล่อยของเสียลงในน้ำที่อยู่ในรูปของฟอสฟอรัส

Phromkunthong และ Udom (2008) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศที่เสริมฟอสฟอรัสในรูปแบบไดแคลเซียมฟอสเฟต dicalcium phosphate (DCP) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงขึ้นตามระดับฟอสฟอรัสในอาหารที่เพิ่มขึ้น และเมื่อศึกษาปริมาณความต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เหมาะสมของปลานิลแดงแปลงเพศ คือ 0.76 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการเสริมฟอสฟอรัสส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในตัวปลา กระจก และมูลมีค่าสูงขึ้น ส่วนไขมันในเนื้อปลามีค่าลดลงเมื่อระดับฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น

Uyan และคณะ (2007) ศึกษาผลของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและฟอสฟอลิปิดในอาหารโดยใช้โมโนแคลเซียมฟอสเฟตและฟอสฟอลิปิดบริสุทธิ์ เป็นแหล่งของฟอสฟอรัสและฟอสฟอลิปิด พบว่าน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอาหารที่กิน มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของฟอสฟอรัสและฟอสฟอลิปิดในอาหารเพิ่มขึ้น ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารที่ 1.65 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอลิปิดที่ 5.2 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด เถ้าและปริมาณฟอสฟอรัสในตัวปลาลดลงเมื่อมีฟอสฟอรัสในอาหารต่ำ จากการศึกษากการเสริมฟอสฟอลิปิดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาแจแปนนิช ฟลาวเคอระยะวัยรุ่น ปลาที่ขาดฟอสฟอรัสส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง กระจกปิดเหงือกผิดปกติ การสะสมแร่ธาตุในกระจกลดลง และมีไขมันในตัวปลาเพิ่มขึ้น

4. ความสำคัญของแคลเซียมในปลา

แคลเซียม (calcium) เป็นแร่ธาตุอีกชนิดที่ปลาต้องการในปริมาณมาก พบมากในกระดูกและเกล็ดของปลามีประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแคลเซียมทั้งหมดที่มีในร่างกาย ส่วนอีก 1 เปอร์เซ็นต์ พบในเลือดและเนื้อเยื่อ ทั้งนี้ปลามีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบประมาณ 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (Haylor *et al.*, 1988) แคลเซียมส่วนใหญ่ถูกนำไปสร้างกระดูก โดยนำไปเป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ด ส่วนแคลเซียมที่มีในเลือดและเนื้อเยื่อสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย เช่น การหดตัวของกล้ามเนื้อ การแข็งตัวของเลือด การถ่ายทอดสัญญาณประสาท กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด ควบคุมเยื่อเซลล์ให้คงตัว และการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารละลายบริเวณเยื่อเซลล์ (Calta and Canpolat, 2001; Ekingen, 2001 อ้างโดย Aydin *et al.*, 2008) Aydin และคณะ (2008) พบว่าปลาสามารถดูดซึมแคลเซียมจากอาหารโดยดูดซึมผ่านทางลำไส้ และดูดซึมผ่านทางเหงือก ครีบ และเซลล์บริเวณช่อง

ปาก ซึ่งบริเวณเหงือกเกิดการดูดซึมมากที่สุด ปลาน้ำจืดมีความต้องการแคลเซียมสูงกว่าปลาน้ำเค็ม เพราะต้องนำไปใช้ในการปรับสมดุลของแร่ธาตุภายในร่างกาย (Chester Jones *et al.*, 1969 อ้างโดย Lall, 2002) และในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แมกนีเซียม สตรอมเซียม สังกะสี และทองแดงมีผลให้เกิดการดูดซึมแคลเซียมลดลง (Gatlin and Phillips, 1989) ดังนั้นระดับของแคลเซียมในน้ำจึงมีผลต่อระดับของแคลเซียมที่ปลาได้รับ โดยแคลเซียมที่ดูดซึมสามารถสะสมในกระดูกซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาต้องการแคลเซียมเป็นองค์ประกอบของโครงร่างแข็งภายในร่างกายมากกว่านำมาใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม (Robinson *et al.*, 1987) โดยปริมาณแคลเซียมที่เสริมในอาหารขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำ และสภาพแวดล้อมในสภาวะปกติไม่พบการขาดแคลเซียมเนื่องจากปลาได้รับแคลเซียมจากน้ำและวัตถุดิบอาหารแต่ในแหล่งน้ำจืดบางแหล่งที่มีปริมาณแคลเซียมต่ำจำเป็นต้องเสริมแคลเซียมในอาหารให้อยู่ในช่วง 0.03-0.65 เปอร์เซ็นต์ (NRC, 1993; Lall, 2002) และปลาสามารถดูดซึมแคลเซียมจากน้ำและอาหารไปเก็บสะสมบริเวณกระดูกและเกล็ดซึ่งอัตราการเก็บสะสมแคลเซียมในปลาน้ำจืดและปลาทะเลมีความใกล้เคียงกันแต่อัตราการแลกเปลี่ยนเกิดขึ้นบริเวณเกล็ดมากกว่ากระดูก 3 เท่า เนื่องจากเกล็ดปลาสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรงแต่ในกระดูกได้รับการสะสมแคลเซียมจากอาหาร (Berg, 1968) และแคลเซียมบริเวณเกล็ดของปลามีการสลายในบางช่วงของการอดอาหาร อพยพย้ายถิ่น และการวางไข่ สำหรับการจับแคลเซียมออกจากตัวนั้นเกิดขึ้นบริเวณเหงือก ไต และมูล (Lall, 2002) แม้ปลาสามารถดูดซึมแคลเซียมจากน้ำมาใช้ประโยชน์ได้แต่การเสริมแคลเซียมในอาหารก็มีความจำเป็นเพื่อป้องกันไม่ให้ปลาแสดงอาการขาดแคลเซียม ปลาที่แสดงอาการขาดแคลเซียม คือ ปลาที่ต้องการแคลเซียมสูงซึ่งมีลักษณะอาการดังต่อไปนี้คือ ประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ มีความผิดปกติของกระดูกซี่โครงและกระดูกทั่วไป การเจริญเติบโตช้า น้ำหนัก และปริมาณเนื้อในร่างกายน้อยลง (O'Connell and Gatlin, 1994) สาเหตุของการขาดแคลเซียมอาจเนื่องมาจากการใช้วัตถุดิบพืชจำพวกกากถั่วเหลือง รำ ข้าวโพด เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร ซึ่งวัตถุดิบจำพวกนี้มีไฟเตทเป็นองค์ประกอบสูงส่งผลให้ดูดซึมแคลเซียมผ่านกระเพาะอาหารหรือลำไส้ได้น้อยลง ดังนั้นอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบพืชมากก็ควรเติมแคลเซียมในรูปของสารประกอบอินทรีย์สมทบให้มากขึ้น เช่น โมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต ไตรแคลเซียมฟอสเฟต เนื่องจากอยู่ในรูปที่แตกตัวได้ง่าย และละลายน้ำได้ดีกว่าและสำหรับปลาที่มีความต้องการแคลเซียมต่ำ เช่น ปลาไน ปลาเรนโบว์ เทราท์ และปลาคอเมกันมีความต้องการแคลเซียมที่ประมาณ 0.02-0.03 เปอร์เซ็นต์ เพราะปลาเหล่านี้อยู่ในแหล่งน้ำที่มีแคลเซียมสูง โดยมีปริมาณแคลเซียม 16-20 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ppm) (NRC, 1993) ส่วนปลาไหล ปลาราดซิบรีมมีความต้องการแคลเซียมประมาณ 0.27-0.34 เปอร์เซ็นต์ จึงควรเสริมแคลเซียมในอาหาร (Sakamoto and Yone, 1973)

Robinson และคณะ (1986) ศึกษาความต้องการแคลเซียมในปลาคออเมริกันโดยปลาคออเมริกันได้รับแคลเซียมในอาหารอยู่ในช่วง 0.17-0.85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับของฟอสฟอรัสในอาหารคงที่คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโต และความต้องการแคลเซียมในอาหารที่เหมาะสมคือ 0.45 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าระดับของถั่ว ฟอสฟอรัส และแคลเซียมในกระดูกสันหลังมีความสัมพันธ์กับระดับของแคลเซียมในอาหารจากข้อมูลพื้นฐานแสดงให้เห็นว่าปลาคออเมริกันในช่วงของการขาดแคลเซียมจะเก็บรักษาแคลเซียมไว้ในกระดูก

Robinson และคณะ (1987) ศึกษาความต้องการแคลเซียมของปลานิลระยะปลานิว โดยเลี้ยงปลาในน้ำที่ปราศจากแคลเซียม ใช้อาหารบริสุทธิ์ที่มีเคซีนเป็นแหล่งของโปรตีนตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยเสริมแคลเซียมซัลเฟตในอาหารที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงระหว่าง 0.17-1.0 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าระดับของแคลเซียมที่เหมาะสมของปลานิลคือ 0.5 เปอร์เซ็นต์

O'Connell และ Gatlin (1994) พบว่าระดับแคลเซียมและวิตามินดี 3 ต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และองค์ประกอบของแร่ธาตุของปลานิลในกระดูกและเกล็ดมีค่าเพิ่มขึ้น จากการทดลองการเสริมแคลเซียม กับไม่เสริมแคลเซียมในอาหารโดยไม่คำนึงถึงการเสริมวิตามินดี 3 สำหรับอาหารปลาที่ไม่เสริมวิตามินดี 3 แต่การเสริมแคลเซียมส่งผลให้น้ำหนักปลาลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมแร่ธาตุทั้งสองชนิด ดังนั้นการเสริมวิตามินดี 3 จึงไม่ส่งผลต่อการใช้แคลเซียมในอาหารปลาเพื่อการเจริญเติบโต แต่แคลเซียมในอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางเคมีของแร่ธาตุในตัวปลา

Hossain และ Furuichi (2000a) ศึกษาการเสริมแคลเซียมในปลากระบอกเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ในอาหารจำนวน 4 สูตร ประกอบด้วยการเสริมแคลเซียมแลคเตท 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่เสริมแคลเซียม และเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ 0.2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าการใช้แคลเซียมแลคเตทและไตรแคลเซียมฟอสเฟตให้ผลการเจริญเติบโตดีกว่าสูตรอาหารที่ไม่เสริมแคลเซียม ดังนั้นจะเห็นว่าในน้ำทะเลมีแคลเซียมไม่เพียงพอกับความต้องการของปลากระบอก ถึงแม้ว่าการเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตจะส่งผลทางลบและอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแร่ธาตุสังกะสี แมงกานีส โพแทสเซียม และเหล็กในกระดูก และพบว่าระดับแร่ธาตุแคลเซียมสังกะสี และเหล็กในตับมีค่าต่ำ ในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต

Hossain และ Furuichi (2000b) ศึกษาความสามารถในการใช้แคลเซียมในน้ำทะเล โดยการเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตในระยะวัยรุ่นของปลาเจแปนนิช ฟลาวเดอ ในอาหารจำนวน 4 สูตร คือ เสริมแคลเซียมแลคเตท 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่เสริมแคลเซียม เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ 0.2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้ระยะเวลาการเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ชุดที่ไม่เสริมแคลเซียมส่งผลให้มีการเจริญเติบโตต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมแคลเซียมแลคเตท และไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ 0.2

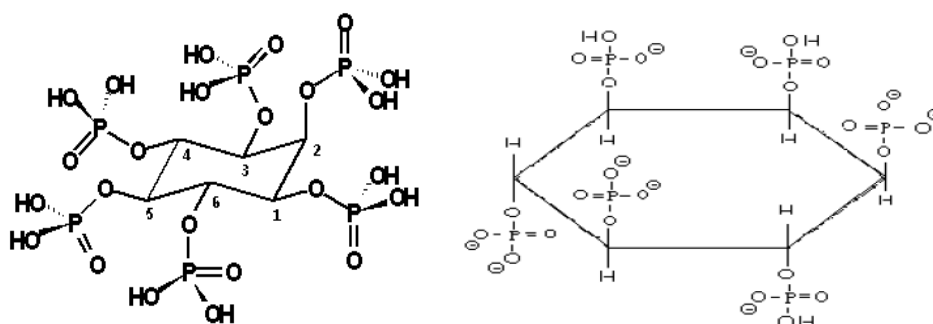
เปอร์เซ็นต์ แต่การเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตในปริมาณสูงเกินความต้องการส่งผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Shiau และ Tseng (2007) ศึกษาความต้องการแคลเซียมของปลานิลในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมอยู่ในช่วง 27.1-33.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการเสริมแคลเซียมแลคเตทมากกว่าหรือเท่ากับ 0.37 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด ขณะที่อาหารในชุดควบคุมไม่เสริมแคลเซียมให้ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำสุด ส่วนอาหารที่มีแคลเซียมแลคเตทมากกว่าหรือเท่ากับ 0.47 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้แคลเซียมในกระดูกและเกล็ดมีค่าสูงที่สุด สำหรับอาหารที่มีแคลเซียมแลคเตทมากกว่าหรือเท่ากับ 0.26 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารมีค่าการทำงานของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้นเป็น 36 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชิงเส้นของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและระดับแคลเซียมในเกล็ดเป็นตัวแสดงให้เห็นว่าระดับของแคลเซียมในอาหารที่เพียงพอต่อปลานิล คือ 0.35 และ 0.42 เปอร์เซ็นต์

5. บทบาทของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปลา

Rehulka และ Minarik (2008) กล่าวว่าแร่ธาตุจำพวกฟอสฟอรัสและแคลเซียมมีหน้าที่สำคัญในการพัฒนา และรักษาระบบโครงกระดูก นอกจากนี้พบว่ายังมีบทบาทหลายประการในกระบวนการทางสรีรวิทยาในร่างกายรวมถึงการรักษาสมดุลของกรด-ด่าง ซึ่งวัตถุดิบพืชและวัตถุดิบสัตว์นั้นมีฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่อยู่ในรูปที่ปลาสามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ได้น้อย เนื่องจากมีกรดไฟติก (Liang *et al.*, 2008) ที่เป็นตัวขัดขวางการใช้อิเล็กตรอน 2 บวก เช่น เหล็ก (Fe^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) และสังกะสี (Zn^{2+}) กลุ่มของฟอสฟอรัสของกรดไฟติก รวมเรียกว่า (myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate) มีองค์ประกอบที่ซับซ้อน และมีโครงสร้างเป็นรูปหกเหลี่ยม ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยมีกรดฟอสฟอริกจับกับไมโออินโนซิทอลด้วยพันธะเอสเทอร์มีคุณสมบัติเป็นคีเลต (chelate) (Larsson *et al.*, 1997; Lestienne *et al.*, 2005 อ้างโดย Liang *et al.*, 2008) ทำให้ไม่สามารถนำสารอาหาร และแร่ธาตุ ซึ่งถูกเก็บสะสมอยู่ในโครงสร้างส่วนนี้ของวัตถุดิบพืชไปใช้ประโยชน์ได้เต็มที่ (Mega, 1982; Morris, 1986) ส่วนไฟติน (phytin) จะอยู่รวมตัวกับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทสเซียม (วุฒิพร และ อัจฉริยา, 2548) ซึ่งเกลือของกรดไฟติก ประกอบด้วยอินโนซิทอลกับฟอสเฟต เรียกว่า ไฟเตท (phytate) (Wilson *et al.*, 1982) ไฟเตทเป็นเกลืออนุพันธ์ของกรดไฟติกมีโครงสร้างประกอบด้วยไฟติกไปรวมตัวกับแร่ธาตุต่างๆ ที่มีประจุบวกสอง หรือ กรดอะมิโนบางชนิดกลายเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนไม่สามารถย่อยสลายและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ แต่การย่อยสลายเกิดขึ้นเมื่อมีเอนไซม์ไฟเตส (phytase) คือเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของฟอสฟาเตสสามารถไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) และพบว่าเอนไซม์นี้สามารถทำให้โมเลกุลของฟอสเฟตหลุดจากโครงสร้างของ

ไฟเตทโดยเกิดบริเวณเยื่อบุผนังลำไส้เล็ก (small intestinal brush border membrane: La Vorgna, 1998 อ้างโดย Ellestad *et al.*, 2003) ดังนั้นเอนไซม์ไฟเตสสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัส รวมถึงแร่ธาตุอื่นๆ ที่มีในวัตถุดิบพืชได้สูงขึ้น (Sugiura *et al.*, 2001; Cheng and Hardy, 2003) ซึ่งการใช้เอนไซม์ไฟเตสเป็นไปแนวทางเดียวกับการเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตเพราะให้ผลของการเจริญเติบโต และการใช้แร่ธาตุมีความคล้ายคลึงกับการใช้วัตถุดิบพืชในอาหารที่มีการเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟต (Portz *et al.*, 2003; Portz and Liebert, 2004 อ้างโดย Liebert and Portz, 2007) Satoh และคณะ (2002); Cheng และ Hardy (2003) พบว่าไฟเตทมีคุณสมบัติเป็นสารต้านโภชนาการในการดูดซึมแร่ธาตุที่สำคัญซึ่งเป็นผลให้การใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุดังกล่าวในอาหารลดลง (Francis *et al.*, 2001) วัตถุดิบพืชส่วนใหญ่มีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของไฟเตทประมาณ 50-80 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดที่มีอยู่ (Chung, 2002) ซึ่งเป็นรูปที่สัตว์น้ำไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ เนื่องจากทางเดินอาหารของสัตว์น้ำไม่มีเอนไซม์ไฟเตส (Lall, 1991) ในการศึกษาของ Sakamoto และ Yone (1973) พบว่าความต้องการฟอสฟอรัสต่อแคลเซียมในสัตว์บกจำพวกสัตว์กระเพาะเดี่ยวในสัดส่วนระหว่างฟอสฟอรัสต่อแคลเซียมมีความสำคัญเพราะการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสสูงในอาหาร ไปรบกวนการดูดซึมฟอสฟอรัส และในทางกลับกันสัดส่วนของฟอสฟอรัสต่อแคลเซียมสูงไปจำกัดการดูดซึมแคลเซียม สำหรับการศึกษาของ Lall (2002) พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมของสัตว์น้ำระหว่างฟอสฟอรัสต่อแคลเซียมมีการศึกษาน้อยมากและจากการศึกษาสัดส่วนในปลาเรดชิบริม คือ 2:1



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก (myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis phosphate)

ที่มา : Adeola และ Sands (2003)

Chavez-Sanchez และคณะ (2000) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลา American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) มีน้ำหนักปลาเริ่มต้น 0.4 กรัม ให้อาหารจนอิ่มและใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 10 สัปดาห์ มีจำนวนสูตรอาหาร 12 สูตร โดยค่าความเข้มข้นของแคลเซียม และฟอสฟอรัส อยู่ที่ระดับ 1:1, 1.2:1, 1.33:1, 1.5:1, 1.6:1 และ 2.0:1 และสัดส่วนที่

เหมาะสมของแคลเซียม และฟอสฟอรัส อยู่ที่ระดับ 1.33:1 ดังนั้นสภาวะการขาดฟอสฟอรัสอาจส่งผลให้มีการเจริญเติบโตลดลง การสะสมของไขมันในตัวและปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูกลดลง การเพิ่มขึ้นของระดับแคลเซียมและฟอสฟอรัสช่วยให้การเจริญเติบโต และการสะสมของแร่ธาตุในกระดูกเพิ่มขึ้น

Paul และคณะ (2004) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสและความเหมาะสมของสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสระยะปลาน้ำในปลา Indian major carp (*Cirrhinus mrigala*) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 6 กรัม ให้อาหารจนอิ่มและใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 12 สัปดาห์ ในอาหารจำนวน 5 สูตร คือ มีอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในสัดส่วน 1:0(0.35:0), 1:1(0.35:0.35), 1:2(0.31:0.63), 1:3(0.24:0.71) และ 1:4(0.19:0.75) ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่มีความเหมาะสมมีสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสมีค่าเท่ากับ 1:4(0.19:0.75) นอกจากนี้มีผลให้ระดับโปรตีน ไขมัน และเปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระดับของฟอสฟอรัสสูงขึ้น

Ye และคณะ (2006) ศึกษาผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในปลากะรังระยะวัยรุ่น (grouper: *Epinephelus coioides*) มีจำนวนอาหาร 6 สูตร กำหนดให้มีระดับฟอสฟอรัส 2 ระดับ คือ การเสริมและไม่เสริมฟอสฟอรัส ปลากะรังมีน้ำหนักเริ่มต้น 29.8 กรัม ให้อาหารจนอิ่มใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 10 สัปดาห์ ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัสแสดงการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความอยากกินอาหาร และปริมาณเถ้าลดลง การสะสมของแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียมในเกล็ดและกระดูกเพิ่มขึ้น และมีไขมันสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น ขณะที่สูตรอาหารที่ไม่มีการเสริมฟอสฟอรัสและมีการเสริมแคลเซียมที่ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณเถ้าในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือกมีการสะสมของแร่ธาตุแคลเซียมฟอสฟอรัสแมกนีเซียม และสังกะสีในเกล็ดเพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าเพิ่มขึ้นขณะที่การเสริมแคลเซียม และฟอสฟอรัสในอาหารที่ 0.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณเถ้าและการสะสมแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียมในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือก แต่การเสริมแคลเซียมมากกว่า 1.2 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลในทางลบต่อการสะสมแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัสแมกนีเซียม และสังกะสีในเกล็ดน้อยลง ซึ่งส่งผลให้มีการเจริญเติบโตลดลง

5.1 แหล่งที่มาของฟอสฟอรัสและแคลเซียม

ปลาได้รับฟอสฟอรัสและแคลเซียมจาก 3 แหล่งใหญ่ๆ คือ วัตถุดิบจากสัตว์วัตถุดิบจากพืช และอนินทรีย์สาร (Noman *et al.*, 1990) ฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่มาจากสิ่งมีชีวิตทั้งที่ได้จากพืชและสัตว์พบอยู่ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ นอกจากนี้วัตถุดิบจากพืชนั้นเป็นแหล่งฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่มีราคาถูก ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อลดต้นทุนของอาหารที่ใช้

เลี้ยงสัตว์น้ำ แต่วัตถุดิบจากพืชมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ในเรื่องของกลิ่น รสชาติของอาหาร และการใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้ไม่เต็มที่ เช่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลาสามารถย่อยฟอสฟอรัสได้น้อยมากประมาณ 8-20 เปอร์เซ็นต์ (วีรพงศ์, 2536) โดยฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปที่ปลานำไปใช้ได้ยากเนื่องจากมีไฟเตท (phytate) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการใช้อิเล็กตรอน 2 บวก เช่น เหล็ก (Fe^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) และสังกะสี (Zn^{2+}) กลุ่มของฟอสฟอรัสของกรดไฟติก รวมเรียกว่า (myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate) มีองค์ประกอบที่ซับซ้อน และมีโครงสร้างเป็นรูปหกเหลี่ยม (Larsson *et al.*, 1997; Lestienne *et al.*, 2005 อ้างโดย Liang *et al.*, 2008) และวัตถุดิบที่ได้จากสัตว์ เช่น ปลาป่นก็พบอยู่ในรูปของไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyl apatite) ซึ่งมีฟอสฟอรัสและแคลเซียมสูงและสัตว์น้ำสามารถนำไปย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ดีและสามารถนำฟอสฟอรัสไปใช้ได้สูงกว่าวัตถุดิบจากพืช โดยเฉพาะปลาป่น ปลาหัวๆ ไปสามารถย่อยปลาป่นได้ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ (Mega, 1982; Morris, 1986) ดังนั้นจึงนิยมหันมาใช้ฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ได้จากการสังเคราะห์เสริมในอาหารในภาคอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์น้ำมากที่สุด คือ การใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟต โมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต และไตรแคลเซียมฟอสเฟต เนื่องจากอยู่ในรูปที่แตกตัวง่าย (Sugiura *et al.*, 2001)

5.2 การดูดซึมและการขับถ่ายฟอสฟอรัสและแคลเซียม

Chester Jones และคณะ (1969) อ้างโดย Lall (2002) กล่าวว่าปลาน้ำจืดมีปริมาณฟอสเฟตในปัสสาวะมากกว่าในปลาน้ำเค็มถึง 40 เท่า เพราะปลาน้ำจืดมีการขับน้ำออกจากตัวตลอดเวลาเพื่อรักษาสมดุลในร่างกายไว้จึงทำให้มีปริมาณแร่ธาตุที่เหลือจากการดูดซึมถูกขับออกสู่ภายนอก Aydin และคณะ (2008) กล่าวว่า การขับถ่ายของเสียแต่ละครั้งมีการสูญเสียฟอสเฟตได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดที่สูญเสียออกจากร่างกายโดยปริมาณฟอสเฟตที่ถูกขับออกขึ้นอยู่กับกระบวนการดูดซึมฟอสเฟตที่เกิดขึ้นซึ่งร่างกายปลาสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟตอิสระ (PO_4^{3-}) พบบริเวณลำไส้เล็กในส่วนของผนังบรัชเบอร์ (brush border membrane) La Vorgna, 1998 อ้างโดย Ellestad และคณะ (2003) กล่าวว่าฟอสเฟตอิสระไปจับกับแคลเซียม (Ca^{2+}) ซึ่งเป็นตัวพาเข้าสู่กระบวนการแอคทีฟทรานสปอร์ต (active transport) แล้วเคลื่อนย้ายของสารไปเก็บสะสมที่เนื้อเยื่อ 2 ชนิด คือ Soft tissue เช่น หัวใจ ตับ ไต กล้ามเนื้อ เลือด เมื่อร่างกายมีอาการขาดฟอสฟอรัสก็สามารถดึงฟอสฟอรัสจากส่วนนี้ออกมาใช้เป็นอันดับแรก (Calta and Canpolat, 2001; Ekingen, 2001 อ้างโดย Aydin *et al.*, 2008) สำหรับ hard tissue เช่น การเก็บสะสมในกระดูกส่วนต่างๆ (Calta and Canpolat, 2001; Ekingen, 2001 อ้างโดย Aydin *et al.*, 2008) ในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังอาศัยวิตามินดี 3 (1, 25 dihydroxychole calciferol)

ทำหน้าที่เหมือนฮอร์โมนช่วยในการรักษาระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในซีรัม สำหรับการดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสขึ้นอยู่กับรูปแบบที่สัตว์น้ำกินเข้าไป ความสามารถในการละลายและบริเวณที่แคลเซียมและฟอสฟอรัสสัมผัสกับผนังเซลล์ที่มีการดูดซึมเป็นที่น่าสังเกตว่าแร่ธาตุสามารถละลายในสภาพความเป็นกรด่างของระบบทางเดินอาหารได้ดี (Liang *et al.*, 2008) ทำให้สัตว์น้ำสามารถนำแคลเซียมไปใช้ประโยชน์ได้ดี (Mohammed *et al.*, 1991; Lewis-McCrea and Lall, 2007; Aydin *et al.*, 2008) ส่วนฟอสฟอรัสที่เหลือจากกระบวนการย่อยและดูดซึมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ปลาจะขับออกมาในรูปของมูลซึ่งออกมาในรูปที่ละลายน้ำ (solution forms) ได้แก่ อินทรีย์ฟอสฟอรัส เช่น ยูรีน และหมู่ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) เป็นฟอสเฟตในรูปที่มีผลต่อคุณภาพน้ำโดยตรง และรูปไม่ละลายน้ำจับเป็นตะกอนดิน (particulate forms) (Amirkolaie *et al.*, 2005) และปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่ถูกย่อยสลายออกมาอย่างช้าๆ โดยแบคทีเรียไปกระตุ้นให้เกิดวัฏจักรของห่วงโซ่อาหาร (Jiménez – Montealegre *et al.*, 2002) เนื่องจากฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำทำให้แพลงก์ตอนเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วขณะที่แพลงก์ตอนใช้สารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนนั้นส่งผลให้ออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ลดลง (Gowen *et al.*, 1991 อ้างโดย Cho and Bureau, 2001) เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของแหล่งน้ำ (Abdolsamad *et al.*, 2006)

6. ความสัมพันธ์ของฟอสฟอรัสและแคลเซียมต่อวิตามินดี

สำหรับความสัมพันธ์ของวิตามินดีต่อฟอสฟอรัสและแคลเซียมนั้นมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับการสร้างกระดูก ระบบการทำงานของนิวเคลียสภายในเซลล์ ควบคุมการสะสมของแร่ธาตุชนิดอื่น และเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ เป็นต้น ซึ่งในที่นี้จะกล่าวเกี่ยวกับวิตามินดีที่มีความสัมพันธ์กับฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ศึกษาโดย Lewis-McCrea และ Lall (2007) สำหรับการศึกษาค้นคว้า รวมถึงผลที่เกิดจากการได้รับวิตามินดี 3 ในสัตว์น้ำมีค่อนข้างจำกัดแต่สำหรับในสัตว์เลือดอุ่นที่มีกระดูกสันหลัง และนกบางชนิดพบว่าในอาหารที่เสริมวิตามินดี 3 ในรูปของ 1,25-dihydroxyvitamin D มีส่วนช่วยในกระบวนการสะสม กระบวนการรักษาความสมดุล และกระบวนการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุจำพวกฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก (Norman, 1990) เพิ่มการดูดซึมฟอสเฟตในทางเดินอาหาร และการดูดซึมฟอสเฟตกลับในไต (Rhoades and Pflanzler, 1996) สำหรับในปลาพบว่าวิตามินดี 3 จะเกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดการสะสมแคลเซียมที่กระดูกเพิ่มมากขึ้น (hypercalcaemia) ในปลาดุกเทศผู้ (*Clarias batrachus*) ปลาไหลอเมริกันเทศผู้ (American eel: *Anguilla rostrata*) และปลาไนเทศผู้ (*Cyprinus carpio*) ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินดี 3 ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร การดูดซึมสารอาหารในลำไส้ และการดูดซึมฟอสเฟตในท่อไตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าในปลาน้ำเค็มมีการสะสมวิตามินดี 3 มากกว่าปลาน้ำจืด (Lee *et al.*, 1986) Mohammed และคณะ (1991) กล่าวว่าวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยงปลาจำพวกปลาป่นและน้ำมัน

ตับปลาที่ได้จากปลาทะเลถือว่าเป็นแหล่งของวิตามินดี₃ในปริมาณมากที่สุดแต่ในรูปแบบที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีก็ได้รับความนิยมใช้เช่นเดียวกัน คือ 1, 25-ไฮดรอกซี-วิตามินดี₃ (1,25-dihydroxy vitamin D₃) และ 1,25-ไดไฮดรอกซีวิตามินดี₃ (1,25-dihydroxy vitamin D₃) โดยนิยมเสริมด้วยวิธีการฉีดเข้าผนังช่องท้องซึ่งมีผลทำให้ระดับของฟอสฟอรัสในซีรัมเพิ่มสูงขึ้นในปลาคูปลาไหล (Srivastav *et al.*, 1997) และปลาไน (Swarup *et al.*, 1989) ในขณะที่ปลาเรนโบว์เทราท์ (Availa *et al.*, 1999) และปลาไหลอเมริกัน (Fenwick and Vermette, 1989) ระดับของฟอสฟอรัสในกระดุกนั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ในระหว่างชุดการทดลองนอกจากนี้ยังพบว่าปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสอย่างเพียงพอ และเสริมด้วยวิตามินดี₃ ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณการดูดซึมฟอสเฟตในทางเดินอาหาร (Vielma *et al.*, 1998a; Availa *et al.*, 1999)

7. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาระดับฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลานิลแดงแปลงเพศ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. วัสดุ

1.1 ภาชนะที่ใช้สำหรับทดลอง

1.1.1 ภาชนะนิลแดงแปลงเพศ

ภาชนะนิลแดงแปลงเพศมีน้ำหนักเฉลี่ย 5 กรัมต่อตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดพัทลุง นำภาชนะที่ได้มาเลี้ยงและปรับสภาพจนได้ภาชนะที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 12 กรัมต่อตัว

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง และวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางโภชนาการอาหารทดลองแสดงในภาคผนวก

1.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัสของตัวปลาทดลอง เนื้อ เกล็ด กระดูกปลา มูลปลา อาหารทดลอง และวัตถุดิบอาหาร แสดงในภาคผนวก

1.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โครมิกออกไซด์ในมูลปลา และอาหารทดลองแสดงในภาคผนวก

1.2.4 สารเคมีสำหรับสลบปลาในระหว่างการชั่งน้ำหนัก คือ น้ำมันกานพลู (clove oil)

1.3 อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นการทดลอง

อาหารสำหรับใช้ออนุบาลลูกปลานิลแดงแปลงเพศก่อนเริ่มทดลองเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปยี่ห้อไฮ-เกรด ของบริษัทเอส ดับบลิว ที เบอร์ 9961 ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการ คือ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใย 5 เปอร์เซ็นต์

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

2.1.1 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 1 ลูกบาศก์เมตร สำหรับอนุบาลลูกปลานิลแดงแปลงเพศ

2.1.2 ตู้กระจกขนาด 45 × 91 × 45 เซนติเมตร ขนาดความจุน้ำ 184 ลิตร และปิดตู้กระจกด้านข้างและด้านหลังตู้ด้วยแผ่นพลาสติกทึบทั้ง 3 ด้าน เพื่อป้องกันการรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก

- 2.1.3 อุปกรณ์ให้อากาศ ได้แก่ เครื่องให้อากาศ สายยางใส และหัวทราย
- 2.1.4 อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ ได้แก่ สายยางสำหรับเปลี่ยนถ่ายน้ำ เครื่องสูบน้ำ
- 2.1.5 อุปกรณ์เคลื่อนย้ายปลา ได้แก่ สวิง ชั้นพลาสติก ถึงพลาสติก

2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.2.1 เครื่องผลิตอาหารยี่ห้อ Hobart mixer รุ่น A 200 T ที่ประกอบไปด้วยชุดเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด ชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.2.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัตถุดิบอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของบริษัท Satorius รุ่น Basic เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Satorius รุ่น Research กระบอกตวงน้ำ ปิกเกอร์ ถาดใส่อาหาร และถุงพลาสติกบรรจุวัตถุดิบและอาหารทดลองที่เสร็จสิ้นกระบวนการ

2.2.3 ตู้เย็นเพื่อเก็บอาหารทดลองในระหว่างการรอนำไปใช้

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง และตัวปลา

2.3.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) ตู้อบ (hot air oven) ของบริษัท Memmert โถดูดความชื้น (dessicator) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.3.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของบริษัท Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของบริษัท Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระดาษชั่งตัวอย่างปราศจากไนโตรเจนกระบอกตวง ปิกเกอร์ บิวเรต และขวดรูปชมพู่

2.3.3 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของบริษัท Gallenkamp โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.3.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6 กระดาษกรองสาร ด้วยสกัดไขมัน ตู้อบ โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.3.5 อุปกรณ์วิเคราะห์ฟอสฟอรัส ได้แก่ ตู้อบ โถอบแห้ง เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง แผ่นให้ความร้อน (0-300 องศาเซลเซียส) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดพลาสติก และหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

2.4.1 อุปกรณ์เจาะเลือดปลา ได้แก่ เข็มขนาด 25G และหลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

2.4.2 อุปกรณ์แยกพลาสมา ได้แก่ ไมโครปีเปต เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ของบริษัท Beckman รุ่น Avanti™

2.4.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectro photometer) ของบริษัท Shimada รุ่น UV 120IV

2.5 อุปกรณ์วิเคราะห์โครมิกออกไซด์ในอาหารทดลองและมูลปลาทดลอง

2.5.1 อุปกรณ์เก็บมูลปลา ประกอบด้วยสวิงดักปลาทดลอง คีมคีบ (forceps) ผ้าขนหนู และกล่องพลาสติกสำหรับเก็บรวบรวมมูล

2.5.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โครมิกออกไซด์ ได้แก่ ตู้อบ โถดูดความชื้น โกร่งบด ตัวอย่าง เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง แผ่นให้ความร้อน (0-300 องศาเซลเซียส) ขวดรูปชมพู่ ขวดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร และขวดน้ำกลั่น

2.5.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-vis spectrophotometer) ของบริษัท Shimazu รุ่น UV mini 1240

2.6 อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ประกอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius รุ่น B 3100S ถังพลาสติก ขันพลาสติก และสวิงดักปลาทดลอง

3. วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด $45 \times 91 \times 45$ เซนติเมตร ความจุน้ำ 184 ลิตร (ต่อ 1 หน่วยการทดลอง) ทำความสะอาด และติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศที่ประกอบด้วยเครื่องให้อากาศ สายยาง และหัวทราย แล้วเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ปริมาตร 150 ลิตร ปิดตู้ด้วยพลาสติกสีทึบ 3 ด้านเพื่อป้องกันการถูกรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยในระหว่างการทดลองมีการทำความสะอาดตู้ทดลอง สายอากาศ และหัวทรายให้อากาศ นอกจากนี้กำหนดให้มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในช่วง 13.00 น. ของทุกวัน โดยใช้น้ำประปาที่ผ่านการพักน้ำเป็นเวลา 2 วัน และปราศจากคลอรีนซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยการใช้โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)

3.2 การเตรียมปลาทดลอง

นำปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดพัทลุง ซึ่งมีขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย 5 กรัมต่อตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ลูกบาศก์เมตร เพื่อให้ได้ปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 12 กรัมต่อตัว โดยให้ปลากินอาหารเม็ดสำเร็จรูปดั่งที่ระบุไว้ในข้อ 1.3 วันละ

2 ครั้ง คือ เวลา 9.00 และ 16.00 น. จากนั้นนำปลาไปตรวจสุขภาพก่อนคัดเลือกปลาที่แข็งแรงใส่ตู้ทดลอง จำนวน 20 ตัวต่อตู้ ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของปลา และบันทึกผลการทดลอง โดยสลับปลาด้วยน้ำมันกานพลู 1 มิลลิลิตร ต่อ น้ำ 1-2.5 ลิตร เมื่อน้ำมันกานพลูผสมกับน้ำจะได้สารละลายสีใส โดยน้ำมันกานพลูมีคุณสมบัติสามารถระเหยไปตามธรรมชาติ ไม่เกิดการตกค้าง และชั่งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งยี่ห้อ Satorius รุ่น B 3100S

3.3 การเตรียมอาหารทดลอง

การทดลองใช้ระยะเวลา 8 สัปดาห์ กำหนด 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 คือ ความต้องการฟอสฟอรัสใช้ในรูปของโมโนโซเดียมฟอสเฟต $\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ ปัจจัยที่ 2 คือ ความต้องการแคลเซียมใช้ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ซึ่งมี 9 สูตรการทดลอง ประกอบไปด้วยวัตถุดิบ เช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลาขี้ขาว รำละเอียด น้ำมันปลา วิตามินผสม เมทไธโอนีน แป้งข้าวเจ้า แร่ธาตุผสม โมโนโซเดียมฟอสเฟต แคลเซียมคาร์บอเนต และโครมิกออกไซด์ จัดให้แต่ละชุดการทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำ มีหน่วยทดลองทั้งหมด 27 หน่วยทดลอง โดยปล่อยลูกปลานิลแดงแปลงเพศลงตู้กระจกขนาด $45 \times 91 \times 45$ เซนติเมตร ความจุน้ำ 184 ลิตร ตู้ละ 20 ตัว ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศและเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ปริมาตร 150 ลิตร ปิดตู้ด้วยพลาสติกสีทึบ 3 ด้านเพื่อป้องกันการถูกรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยสุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 12 กรัมต่อตัว โดยให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 09.00 และ 16.00 น. ให้ปลากินจนอิ่ม ซึ่งก่อนทำอาหารทดลองได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบก่อนสร้างสูตรอาหาร ซึ่งอาหารทุกสูตรมีระดับสารอาหารใกล้เคียงกันคือ มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ และระดับพลังงาน 3,500 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และสาเหตุของการเลือกใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟต (monosodiumphosphate: MSP) ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง $\text{Na}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ มีคุณสมบัติละลายน้ำและแตกตัวได้ดี เนื่องจากโมโนโซเดียมฟอสเฟต หรือ MSP สามารถแตกตัวได้ฟอสฟอรัสซึ่งสามารถใช้คำนวณในสูตรอาหารได้สะดวกส่วนแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) มีสูตรโครงสร้างคือ CaCO_3 เป็นผลึกหรือผง ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำแต่ละลายได้ในกรด ส่วนการใช้โมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต และไตรแคลเซียมฟอสเฟตไม่เหมาะนำมาใช้เป็นแหล่งของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในการทดลองครั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของอนินทรีย์สารแต่ละตัวจะแตกตัวให้ ฟอสฟอรัส และแคลเซียม ซึ่งจะเป็นการยากต่อการกำหนดระดับของความสามารถในการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในสูตรอาหาร เพราะแร่ธาตุทั้งสองชนิดผสมรวมกัน ซึ่งแผนผังการใช้มีรายละเอียด ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร

สูตรที่	ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	แคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้
1	0.3	0.3
2	0.3	0.6
3	0.3	0.9
4	0.7	0.3
5	0.7	0.6
6	0.7	0.9
7	0.9	0.3
8	0.9	0.6
9	0.9	0.9

3.4 ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลองมีดังต่อไปนี้

3.4.1 นำวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการตามวิธีการของ AOAC (1990) จากนั้นจึงสร้างสูตรอาหาร โดยคำนวณอาหารทดลองทุกสูตรให้มีระดับของโปรตีน ไขมัน พลังงานระดับที่เท่ากัน และกำหนดให้ปริมาณฟอสฟอรัส และแคลเซียมในอาหารมีระดับตามที่ต้องการดังตารางที่ 3

3.4.2 ชั่งวัตถุดิบอาหารที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) ชั่งวัตถุดิบทั้งหมดตาม

3.4.3 นำวัตถุดิบทั้งหมดที่แยกไว้ข้างต้นยกเว้นน้ำมันปลาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร Hobart mixer รุ่น A 200 T ประมาณ 15 นาที โดยในช่วง 5 นาทีแรกให้ใส่น้ำมันปลา หลังจากนั้นอีก 5 นาทีอัตราส่วนที่ต้องการ ส่วนน้ำมันปลา วิตามิน และแร่ธาตุแยกถุงพลาสติกไว้ใช้ในแต่ละชุดการทดลองน้ำหนักที่เติมน้ำสะอาด 350 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหารผสมต่อไปจนกระทั่งครบเวลาตามที่กำหนดเพื่อให้วัตถุดิบอาหารเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ดดังตารางที่ 3

3.4.4 นำวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้วเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแวนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร โดยอัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน

3.4.5 อบอาหารที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3.4.6 เก็บอาหารทดลองที่ผ่านการอบแล้วบรรจุถุงพลาสติก เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้ทดลอง

3.4.7 นำอาหารที่เตรียมไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และแคลเซียม ตามวิธีของ AOAC (1990) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตรดังต่อไปนี้คือ

Nitrogen free extract หรือ NFE = $100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เถ้า} + \% \text{เยื่อใย})$ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารในการทดลอง (% บนฐานน้ำหนักแห้ง)¹

วัตถุดิบอาหาร	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม	NFE ²
โมโนโซเดียมฟอสเฟต	-	-	-	-	-	20.5±0.68	-	-
ปลาป่น	9.17±0.04	63.94±0.33	10.95±0.28	14.04±0.06	0.16±0.13	2.06±0.09	1.8217	0.45±0.08
กากถั่วเหลือง	10.89±0.29	44.28±0.81	1.25±0.07	6.27±0.02	7.29±0.06	0.63±0.02	0.1647	29.23±0.74
แป้งข้าวเจ้า	8.89±0.29	7.77±0.15	-	0.23±0.06	4.71±0.46	0.08±0.00	0.0105	78.31±0.56
ปลายข้าว	11.37±0.03	6.90±0.23	0.90±0.01	0.64±0.02	0.033±0.04	0.16±0.02	0.0091	79.99±0.80
รำละเอียด	11.01±0.16	10.69±0.18	15.14±0.10	9.98±0.06	6.23±0.57	1.59±0.03	0.051	45.31±0.18
แคลเซียมคาร์บอเนต	-	-	-	-	-	-	37.24	-

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²NFE คือ Nitrogen free extract

สัญลักษณ์ (-) หมายถึงไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร

วัตถุดิบ/อาหารทดลอง	อาหารทดลอง/ฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้/แคลเซียมที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ (%)								
	T1/ AvP 0.3/	T2/ AvP 0.3/	T3/ AvP 0.3/	T4/ AvP 0.7/	T5/ AvP 0.7/	T6/ AvP 0.7/	T7/ AvP 0.9/	T8/ AvP 0.9/	T9/ AvP 0.9/
	AvCa 0.3	AvCa 0.6	AvCa 0.9	AvCa 0.3	AvCa 0.6	AvCa 0.9	AvCa 0.3	AvCa 0.6	AvCa 0.9
ปลาป่น	6	6	6	6	6	6	6	6	6
กากถั่วเหลือง	54	54	54	54	54	54	54	54	54
ปลายข้าว	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
รำละเอียด	14	14	14	14	14	14	14	14	14
น้ำมันปลา	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6
วิตามินผสม ¹	1	1	1	1	1	1	1	1	1
เมทไธโอนีน	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
แป้งข้าวเจ้า	14.12	13.3	12.5	12.05	11.25	10.45	11	10.2	9.4
แร่ธาตุผสม ²	3	3	3	3	3	3	3	3	3
โมโนโซเดียมฟอสเฟต	0.1	0.1	0.1	2.15	2.15	2.15	3.2	3.2	3.2
แคลเซียมคาร์บอเนต	0.7	1.5	2.3	0.7	1.5	2.3	0.7	1.5	2.3
โครมิกออกไซด์	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
ฟอสฟอรัสทั้งหมดจากการวิเคราะห์	1.08	1.13	1.12	1.47	1.67	1.71	1.96	1.87	2.05
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้คำนวณ	0.3	0.3	0.3	0.7	0.7	0.7	0.9	0.9	0.9
แคลเซียมทั้งหมดจากการวิเคราะห์	0.57	0.94	1.17	0.71	1.01	1.18	0.77	1.00	1.47
แคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้คำนวณ	0.3	0.6	0.9	0.3	0.6	0.9	0.3	0.6	0.9

¹Vitamin premix (mg / 1 kg fed diet) : Thiamine (B₁) 10; Riboflavin (B₂) 20; Pyridoxine (B₆) 10; Cobalamin (B₁₂) 0.05; Retinal (A) 4 (7,000 IU); Cholecalciferol (D₃) 0.1 (4,000 IU); Phylloquinone (K₁) 80; Folic acid 5; Calcium pantothenate 40; Inositol 400; Niacin 150; Tocopherol (E) 60 (66 IU); Ascorbic acid (C) 500; Biotin 3.

Vitamin A (vitamin A-palmitate) 1,750 IU/mg; Vitamin D (vitamin D₃; cholecalciferol) 40,000 IU/mg; Vitamin E (vitamin E; DL- α -tocopherol) 1.1 IU/mg

²Mineral premix (g / 1 kg mineral premix) : Na 3.278; Mg 25.25; K 76.612; Fe 4.821; Zn 0.667; Mn 0.433; Cu 0.069; Co 0.00199; I 0.015.

ตารางที่ 5 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง (% บนฐานน้ำหนักแห้ง)¹

ชุดทดลอง	คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองที่เสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนต							
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม	เยื่อใย	NFE ²
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	5.84±0.08	30.07±0.95	7.43±0.16	8.40±0.00	1.08±0.04	0.57±0.00	5.50±0.06	46.45±0.91
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	6.26±0.10	30.01±0.72	7.37±0.38	8.94±0.01	1.13±0.10	0.94±0.00	5.46±0.06	45.54±0.94
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	4.56±0.15	30.59±0.58	7.70±1.15	9.68±0.06	1.12±0.03	1.17±0.00	5.42±0.06	45.37±1.63
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	6.35±0.08	30.71±0.45	7.64±0.23	9.63±0.01	1.77±0.03	0.71±0.01	5.40±0.05	42.76±0.33
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	5.25±0.08	30.30±0.73	7.95±0.54	10.49±0.04	1.67±0.00	1.01±0.00	5.36±0.05	43.57±1.00
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	6.49±0.11	30.68±1.07	7.88±0.23	11.13±0.06	1.71±0.02	1.18±0.00	5.36±0.05	41.11±1.42
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	6.71±0.25	30.70±1.18	8.05±0.70	10.66±0.02	1.96±0.16	0.77±0.00	5.35±0.05	40.59±1.77
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	7.06±0.09	30.78±1.53	6.85±0.75	11.15±0.08	1.87±0.13	1.00±0.00	5.31±0.05	41.57±2.41
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	6.11±0.09	30.87±0.76	6.81±0.24	11.81±0.14	2.05±0.20	1.47±0.01	5.27±0.05	41.32±0.53

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

²NFE คือ Nitrogen free extract

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

3.5 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟกตอเรียล (Factorial design; Completely Randomized Design: CRD) โดยกำหนดปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 และ 2 คือ ความต้องการฟอสฟอรัส และ แคลเซียม ตามลำดับ ใช้ระยะเวลาในการทดลองทั้งสิ้นเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ใช้อาหารทดสอบจำนวน 9 สูตรและจัดให้แต่ละชุดการทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำ มีหน่วยทดลองทั้งหมด 27 หน่วยทดลอง โดยอาหารทดลองสูตรที่ 1-สูตรที่ 9 มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมตามรายละเอียดการเตรียมอาหารทดลอง จากนั้นเก็บตัวอย่างปลาเพื่อนำไปวิเคราะห์ความชื้น และองค์ประกอบทางเคมีของปลา เช่น โปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียม ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) แล้วปล่อยลูกปลานิลแดงแปลงเพศในตู้ทดลอง ตู้ละ 20 ตัว รวมจำนวนทั้งหมด 540 ตัว สุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 12 กรัมต่อตัว ให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 09.00 และ 16.00 น. ให้ปลากินจนอิ่ม ซึ่งก่อนให้อาหารช่วงเย็นดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำแล้วเติมน้ำที่ผ่านการพักมาแล้วให้ถึงระดับเดิมทุกครั้ง ในระหว่างการเลี้ยงมีการตรวจสอบการเจริญเติบโตในทุกๆ 2 สัปดาห์ สำหรับการศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยอาหาร (digestibility coefficient) โดยเริ่มเก็บมูลสำหรับการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสและแคลเซียมหลังจากเสร็จสิ้นการเก็บการเจริญเติบโต แต่เริ่มให้อาหารที่มีการเติมโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารในสัปดาห์ที่ 7 ของการทดลอง

3.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.6.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมของปลาทุกชุดการทดลอง เช่น การว่ายน้ำ การรับอาหาร และสังเกตลักษณะภายนอก เช่น สีของตัวปลา การตกเลือด การคองของครีบและกระดูก การเกิดบาดแผลบริเวณครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ

3.6.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อทราบน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นโดยชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารก่อนชั่งน้ำหนัก 1 มื้อ) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ตลอดการทดลอง

การเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994)

จากสมการ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์, weight gain)

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (\%)} = \left[\frac{\text{น.น. ปลาสุดท้าย (กรัม)} - \text{น.น. ปลาเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มต้น (กรัม)}} \right] \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR, เปอร์เซ็นต์)

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ} = \left[\frac{\ln \text{น.น.สุดท้าย} - \ln \text{น.น.เริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \right] \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966) จากสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \left[\frac{\text{น.น. อาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น.น. ปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}} \right]$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการ

$$\text{อัตราการกินอาหาร} = \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_1}{2} + \frac{N_0 + N_1}{2} \times t}$$

F = น.น. อาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม)

N_0 = จำนวนปลาเริ่มต้น (กรัม)

W_0 = น.น. ปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)

N_1 = จำนวนปลาสุดท้าย (กรัม)

W_1 = น.น. ปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)

t = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

อัตราการรอด (survival rate, เปอร์เซ็นต์) (Nankervis *et al.*, 2000) ตามสมการ

$$\text{อัตราการรอด (\%)} = \left[\frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (ตัว)}} \right] \times 100$$

การคำนวณค่าดัชนีต่อบต่อตัว

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว นำปลาแต่ละตัวไปชั่งน้ำหนักตัวและน้ำหนักตับ นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีต่อบต่อตัว ตามวิธีของ Anwar และ Jafri (1995) โดยสมการ

$$\text{ดัชนีต่อบต่อตัว (\%)} = \left[\frac{\text{น.น.ตับปลา (กรัม)}}{\text{น.น.ตัวปลา (กรัม)}} \right] \times 100$$

3.6.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 9 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้นในร่างกายและนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมตามวิธีการของ AOAC (1990) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างปลาในแต่ละตู้จำนวน 6 ตัวต่อตู้ นำไปแช่เนื้อ 3 ตัว และปลาที่เหลือนำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำเนื้อปลาที่แช่และตัวปลาไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเนื้อปลาและตัวปลาแห้งแล้วจึงนำไปใส่โถดูดความชื้นรอนจนกว่าตัวปลาเย็นจึงชั่งน้ำหนักเนื้อปลาและตัวปลาเพื่อหาความชื้นของเนื้อปลาและตัวปลา ทำซ้ำจนกระทั่งได้ค่าความชื้นคงที่ แล้วจึงบดเนื้อปลาและตัวปลาให้ละเอียดและนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางโภชนาการ ได้แก่ ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมของเนื้อปลาและตัวปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร ตามวิธีการของ AOAC (1990) นำค่าโปรตีนที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER) คำนวณตามวิธีของ Zeitoun และคณะ (1973) ตามสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \left[\frac{\text{น.น.ปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น.น.โปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}} \right]$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) ตามวิธีของ Robinson และคณะ (1986) จากสมการ

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (\%)} = \left[\frac{(\% \text{ โปรตีนปลาสุดท้าย} - \% \text{ โปรตีนปลาเริ่มต้น})}{\text{น.น. โปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \right] \times 100$$

3.6.4 การศึกษาไขมันในตับของปลา

นำตับปลาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กระจกแห้ง แล้วจึงบดตับให้ละเอียด และนำไปเก็บไว้ในโถสุญญากาศ ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน ตามวิธีการของ AOAC (1990)

3.6.5 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โดยการใช้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นสารบ่งชี้ (indicator) โดยเติมโครมิกออกไซด์ลงในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ และเริ่มให้อาหารโครมิกออกไซด์ในสัปดาห์ที่ 7 ของการทดลอง จากนั้นเริ่มเก็บรวบรวมมูลปลาในสัปดาห์ที่ 8 ด้วยวิธีการกักน้ำโดยใช้สายยางพลาสติกดูดน้ำ และใช้ผ้าตาถี่เพื่อรองรับมูลปลา การเก็บมูลปลาจะเก็บตอนเย็นหลังจากที่ให้อาหาร 3-4 ชั่วโมง และคัดตะกอนอาหารออกจากตู้ มูลปลาที่ได้นำไปเก็บไว้ในช่องแช่แข็งจนได้ปริมาณที่เพียงพอกับการวิเคราะห์ หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสตามวิธีการของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณโครมิกออกไซด์ในอาหารและในมูลตามวิธีของ Furukawa และ Tsukahara (1966) เพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพการย่อย ดังสมการ

สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้ง (dry matter digestibility or total digestibility)

$$\text{Dry matter digestibility} = 100 - 100 \left[\frac{\% \text{ มาร์กเกอร์ในอาหาร}}{\% \text{ มาร์กเกอร์ในมูล}} \right]$$

สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส (Apparent digestibility coefficient, ADC (%))

$$\text{ADC ของอาหาร} = 1 - \left[\frac{\% \text{ โครมิกออกไซด์ในอาหาร} \times \% \text{ ฟอสฟอรัสในมูล}}{\% \text{ โครมิกออกไซด์ในมูล} \times \% \text{ ฟอสฟอรัสในอาหาร}} \right]$$

3.6.6 การศึกษาการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัส

การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัส แคลเซียม และกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม

เมื่อเสร็จการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 2 ตัว เจาะเลือดประมาณ 3 มิลลิลิตร ใส่ eppendorf ทิ้งไว้ 30 นาที เพื่อให้เลือดตกตะกอน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ เป็นเวลา 15 นาที จะเห็นการแยกชั้นของส่วนของของเหลวและตะกอน จากนั้นนำซีรัมใส่ eppendorf นำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสด้วยเครื่อง automated analyzer (Boehringer Mannheim Automated Analysis, Hitachi 717)

การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมในตัวปลา เนื้อ เกล็ด และกระดูกสันหลัง

นำตัวปลา และเนื้อปลาจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่ผ่านการหาความชื้น กระทั่งได้ค่าความชื้นคงที่ จากนั้นจึงบดตัวปลา และเนื้อปลาให้ละเอียดและนำไปเก็บไว้ในโถสุญญากาศ ก่อนนำไปวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในตัวปลา เนื้อปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร ตามวิธีการของ AOAC (1990)

นำปลาจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีมาชูดเกล็ด และแยกกระดูกสันหลัง นำส่วนของเกล็ดล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนและส่วนของกระดูกสันหลังมาต้มด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเพื่อเอาส่วนของเนื้อ เส้นเลือด และเส้นประสาทออกจากกระดูกสันหลัง หลังจากนั้นนำเกล็ด และกระดูกสันหลังไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วจึงบดเกล็ด และกระดูกสันหลังให้ละเอียดนำไปเก็บไว้ในโถสุญญากาศ ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียม ตามวิธีการของ AOAC (1990)

การใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในอาหาร คำนวณหาค่าการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย (Storebakken *et al.*, 1998) โดยคำนวณค่าการสะสมปรากฏ (Apparent retention (P retention)(%))

$$\text{การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย} = 100 \times \left[\frac{\text{FICP} - \text{INCP}}{\text{Phosphorus intake}} \right]$$

โดยที่

FICP = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากหลังการทดลอง (กรัม)

INCP = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากก่อนการทดลอง (กรัม)

Phosphorus intake = ปริมาณของฟอสฟอรัส (หรือสารอาหาร) ที่ใช้ได้ทั้งหมด (กรัม)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขั้บทิ้ง (Phosphorus load) คำนวณตามสมการ (Vielma *et al.*, 2002)

$$\text{ฟอสฟอรัสที่ถูกขั้บทิ้ง} = \left[\frac{\text{ฟอสฟอรัสที่ได้รับ (กรัม)} - \text{ฟอสฟอรัสคงเหลือในตัว (กรัม)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)}} \right]$$

ฟอสฟอรัสในของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด (total solid P waste) (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) (Cho *et al.*, 1991: 1994 อ้างโดย Hua *et al.*, 2008)

$$\text{Total solid P waste} = \text{feed P content} \times \left[\frac{1 - \text{ADC P}}{100} \right]$$

โดยที่ feed P content = ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

ADC P = ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขั้บทิ้งเป็นสารละลายรวม (total dissolved P waste) (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

$$\text{Total dissolved P waste} = \text{feed P content} \times \left[\frac{\text{ADC P} - \text{P retained}}{100} \right]$$

โดยที่ feed P content = ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

ADC P = ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)

P retained = ฟอสฟอรัสที่คงอยู่ (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Duncan, 1955) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 พฤติกรรมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

จากการทดลองตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบความผิดปกติของรูปร่างลักษณะภายนอก พฤติกรรม สีของลำตัว ความผิดปกติหรือการคดงอของกระดูก และครีบปลา การตกเลือด การเกิดบาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอก ของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตร

3.2 การเจริญเติบโต

3.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยปลาต่อตัว

การเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 6 เริ่มต้นการทดลองปลานิลแดงแปลงเพศมีน้ำหนักเฉลี่ย 11.99 ± 0.00 ถึง 12.04 ± 0.04 กรัมต่อตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้อยู่ในช่วง 69.44 ± 8.92 ถึง 83.91 ± 3.80 กรัมต่อตัว ตามลำดับ แต่ปัจจัยแต่ละตัวส่งผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของปลาทดลอง โดยการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ในอาหารเริ่มส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.7) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3), (AvCa = 0.6) และ (AvCa = 0.9) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด และมีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ (AvP = 0.3) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3), (AvCa = 0.6) และ (AvCa = 0.9) ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างจากชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.9) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3), (AvCa = 0.6) และ (AvCa = 0.9) ($p > 0.05$)

ตารางที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ (กรัมต่อตัว)¹

ชุดทดลอง	สัปดาห์ (กรัมต่อตัว)				
	0	2	4	6	8
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	12.04±0.02	19.78±0.77	32.10±1.26	51.76±2.70	69.97±2.38 ^a
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	12.00±0.01	20.00±0.57	32.83±1.19	53.54±2.48	75.37±2.46 ^a
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	12.04±0.05	19.76±0.46	31.59±1.49	50.02±5.82	73.43±11.30 ^a
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	11.99±0.00	21.28±0.43	35.30±0.85	58.51±2.22	83.91±3.80 ^b
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	12.02±0.03	19.74±1.63	32.70±2.99	54.42±6.66	80.70±9.64 ^b
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	12.01±0.00	20.75±0.62	35.09±1.38	55.94±3.35	79.65±3.47 ^b
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	12.04±0.04	20.06±0.46	33.39±2.22	53.63±3.81	77.30±7.19 ^{ab}
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	12.00±0.06	20.42±0.55	34.65±0.78	57.13±0.98	80.15±1.75 ^{ab}
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	12.03±0.04	21.13±1.84	34.37±3.53	54.31±9.51	69.44±8.92 ^{ab}
ฟอสฟอรัส	NS	NS	NS	NS	<0.05
แคลเซียม	NS	NS	NS	NS	NS
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	NS	NS	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

3.2.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และ อัตราการรอดตาย

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย ของปลานิลแดงแปลงเพศ ที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 7 โดยพบว่าค่าดังกล่าวของปลาที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร ไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน โดยมีรายละเอียดดังนี้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่ามีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 451.68 ± 53.74 ถึง 556.71 ± 20.86 เปอร์เซ็นต์ ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และ ($AvP = 0.3$)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอยู่ในช่วง 2.96 ± 0.20 ถึง 3.36 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาทดลองมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยให้ผลการทดลองสอดคล้องกับน้ำหนักเฉลี่ย และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และ ($AvP = 0.3$)

อัตราการกินอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 3.21 ± 0.01 ถึง 3.43 ± 0.40 เปอร์เซ็นต์

อัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 91.67 ± 10.41 ถึง 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัส และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	การเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ			
	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน)	อัตราการกินอาหาร (% ต่อตัวต่อวัน)	อัตราการรอดตาย (%)
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	481.24±20.21 ^a	3.14±0.06 ^a	3.19±0.08	100.00±0.00
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	496.92±41.21 ^a	3.19±0.12 ^a	3.13±0.08	95.00±5.00
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	486.57±61.12 ^a	3.15±0.19 ^a	3.10±0.32	96.67±5.77
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	551.69±10.06 ^b	3.35±0.03 ^b	2.91±0.03	93.33±5.77
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	535.45±46.52 ^b	3.30±0.13 ^b	2.94±0.21	95.00±5.00
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	541.45±38.50 ^b	3.32±0.11 ^b	3.00±0.08	96.67±2.89
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	510.02±63.76 ^a	3.22±0.19 ^a	3.05±0.28	95.00±5.00
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	556.71±20.86 ^a	3.36±0.06 ^a	2.95±0.06	98.33±2.89
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	451.68±53.74 ^a	2.96±0.20 ^a	3.21±0.10	91.67±10.41
ฟอสฟอรัส	<0.05	<0.05	NS	NS
แคลเซียม	NS	NS	NS	NS
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	NS	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการคำนวณ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

3.2.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 8 พบว่าการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.13 ± 0.01 ถึง 1.32 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ และ 2.52 ± 0.08 ถึง 2.96 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิอยู่ในช่วง 27.24 ± 0.28 ถึง 47.27 ± 2.01 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) และ ($AvCa = 0.6$) มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสูงที่สุดคือ 47.27 ± 2.01 และ 45.17 ± 0.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และ ($AvCa = 0.6$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) ทำให้ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำที่สุด และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) ทำให้ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำเช่นกัน

ตารางที่ 8 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริม ฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ		
	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (%)
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	1.26±0.05	2.64±0.10	41.41±0.72 ^{by}
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	1.24±0.07	2.69±0.15	39.65±1.47 ^{by}
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	1.24±0.17	2.72±0.35	35.18±2.89 ^{bx}
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	1.13±0.01	2.96±0.03	30.88±1.98 ^{ay}
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	1.15±0.09	2.92±0.23	31.46±2.24 ^{ay}
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	1.16±0.05	2.88±0.12	27.24±0.28 ^{ax}
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	1.21±0.15	2.79±0.34	47.27±2.01 ^{cy}
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	1.13±0.01	2.96±0.04	45.17±0.63 ^{cy}
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	1.32±0.04	2.35±0.31	39.94±1.43 ^{cx}
ฟอสฟอรัส	NS	NS	<0.05
แคลเซียม	NS	NS	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการคำนวณ)

ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

3.2.4 ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสารอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสารอาหาร (วัตถุแห้ง, ฟอสฟอรัส) ของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 9

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้ง พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 51.05 ± 6.49 ถึง 65.49 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นจะมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งเพิ่มสูงขึ้น โดยการเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และ ($AvP = 0.9$) มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p > 0.05$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งอยู่ในช่วง 57.32 ± 7.25 ถึง 65.49 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกับกลุ่มที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับการเสริมแคลเซียมคาร์บอนเนตนั้นที่การเสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) ให้สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งที่ดีที่สุด คืออยู่ในช่วงระหว่าง 59.99 ± 3.06 ถึง 65.49 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสในอาหาร พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 45.85 ± 5.78 ถึง 69.72 ± 9.45 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และ ($AvP = 0.9$) มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p > 0.05$) แต่มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสูงกว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และปลาที่ได้รับการเสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) จะมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสที่ดีที่สุดคือ อยู่ในช่วงระหว่าง 35.40 ± 5.78 ถึง 69.80 ± 8.94 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 9 สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	สัมประสิทธิ์การย่อยสารอาหาร (%)	
	วัตถุดิบ	ฟอสฟอรัส
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	59.99±3.06 ^{ay}	45.85±5.78 ^{ay}
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	52.42±3.76 ^{ax}	51.03±16.71 ^{ax}
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	51.05±6.49 ^{ax}	50.48±13.87 ^{ax}
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	65.49±2.65 ^{by}	56.69±8.94 ^{by}
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	64.69±2.95 ^{bx}	59.85±5.08 ^{bx}
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	59.24±6.01 ^{bx}	59.32±9.58 ^{bx}
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	63.03±4.04 ^{by}	68.06±3.46 ^{by}
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	57.32±7.25 ^{bx}	69.72±9.45 ^{bx}
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	58.99±4.95 ^{bx}	62.92±12.16 ^{bx}
ฟอสฟอรัส	<0.05	<0.05
แคลเซียม	<0.05	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสครมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

3.2.5 ฟอสฟอรัสในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิล แดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

ผลการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 10 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ เนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา และกระดูกสันหลัง ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และ ($AvP = 0.9$) มีฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลา และเกล็ดปลาสูงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.32 ± 0.02 ถึง 3.16 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ และ 7.12 ± 0.17 ถึง 7.72 ± 0.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.6$) มีฟอสฟอรัสในกระดูกสันหลังสูงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 9.98 ± 0.34 ถึง 10.57 ± 0.44 เปอร์เซ็นต์

เนื้อปลานิลแดงแปลงเพศพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.84 ± 0.08 ถึง 0.96 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์

ส่วนฟอสฟอรัสในมูลปลา พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยฟอสฟอรัสในมูลปลามีค่าอยู่ในช่วง 1.57 ± 0.49 ถึง 1.98 ± 0.18 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีฟอสฟอรัสในมูลสูงที่สุด และแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารกลุ่มอื่นๆ ($p < 0.05$) ค่าฟอสฟอรัสในมูลปลาสูงที่สุด คือ 1.98 ± 0.18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 10 ฟอสฟอรัสในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	ฟอสฟอรัสในอวัยวะต่าง ๆ ของปลานิลแดงแปลงเพศ (% ของอวัยวะต่างๆ)				
	เนื้อปลา	ตัวปลา	เกล็ดปลา	กระดูกสันหลัง	มูลปลา
ปลาก่อนทดลอง	0.74±0.02	1.79±0.31	6.92±0.11	9.19±0.76	-
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	0.88±0.05	2.05±0.22 ^a	4.98±0.45 ^a	10.03±0.50 ^{xy}	1.74±0.16 ^{ab}
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	0.87±0.08	2.17±0.13 ^a	5.23±0.13 ^a	9.98±0.34 ^y	1.79±0.25 ^{ab}
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	0.84±0.08	2.30±0.38 ^a	5.77±0.17 ^a	8.78±0.05 ^x	1.66±0.26 ^a
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	0.95±0.11	2.63±0.11 ^b	7.19±0.55 ^b	9.84±0.69 ^{xy}	1.87±0.20 ^{ab}
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	0.89±0.08	2.69±0.18 ^b	7.60±0.11 ^b	10.24±0.71 ^y	1.57±0.49 ^a
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	0.93±0.03	2.55±0.37 ^b	7.12±0.17 ^b	9.45±1.40 ^x	1.86±0.22 ^{ab}
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	0.90±0.08	2.92±0.27 ^b	7.39±0.6 ^b	10.39±0.67 ^{xy}	1.70±0.25 ^{ab}
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	0.90±0.07	3.11±0.38 ^b	7.72±0.08 ^b	10.57±0.44 ^y	1.66±0.30 ^a
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	0.96±0.02	3.16±0.02 ^b	7.29±0.27 ^b	10.10±0.37 ^x	1.98±0.18 ^b
ฟอสฟอรัส	NS	<0.05	<0.05	NS	NS
แคลเซียม	NS	NS	NS	<0.05	NS
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	NS	NS	<0.05

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.6 แคลเซียมในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิล แดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

ผลการวิเคราะห์แคลเซียมของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 11 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ ส่วนแคลเซียมที่สะสมในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลปลา พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) โดยแคลเซียมในเนื้อปลาอยู่ในช่วง 0.1043 ± 0.0076 ถึง 0.1621 ± 0.0025 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีแคลเซียมสะสมในเนื้อปลาสูงสุด และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) ค่าแคลเซียมที่สะสมในเนื้อปลาสูงสุดคือ 0.1621 ± 0.0025 เปอร์เซ็นต์

การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยแคลเซียมในตัวปลาอยู่ในช่วง 3.30 ± 0.01 ถึง 5.86 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีแคลเซียมสะสมในตัวปลาสูงสุด คือ 5.86 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยแคลเซียมที่สะสมในเกล็ดปลาอยู่ในช่วง 10.61 ± 0.05 ถึง 17.33 ± 0.13 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.6$) มีแคลเซียมสะสมในเกล็ดปลาสูงสุด คือ 17.33 ± 0.13 และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยแคลเซียมในกระดูกสันหลังของปลาอยู่ในช่วง 18.57 ± 0.06 ถึง 23.85 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีแคลเซียมสะสมในกระดูกสันหลังของปลาสูงสุด คือ 23.85 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยแคลเซียมในมูลของปลาอยู่ในช่วง 1.65 ± 0.14 ถึง 2.34 ± 0.31 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$)

และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.9) มีแคลเซียมในมูลปลาสูงสุด คือ 2.34 ± 0.31 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 11 แคลเซียมในเนื้อปลา ตัวปลา เกล็ดปลา กระดูกสันหลัง และมูลของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	แคลเซียมในอวัยวะต่าง ๆ ของปลานิลแดงแปลงเพศ (% ของอวัยวะต่างๆ)				
	เนื้อปลา	ตัวปลา	เกล็ดปลา	กระดูกสันหลัง	มูลปลา
ปลาก่อนทดลอง	0.0167±0.0056	3.32±0.02	17.29±0.11	23.53±0.06	-
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	0.1621±0.0025 ^g	4.48±0.03 ^c	10.61±0.05 ^a	23.85±0.15 ^f	1.87±0.17 ^{ab}
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	0.1163±0.0042 ^b	3.30±0.01 ^a	13.75±0.07 ^b	23.22±0.13 ^{cd}	2.21±0.00 ^{cd}
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	0.1043±0.0076 ^a	4.11±0.02 ^b	16.45±0.11 ^f	23.39±0.21 ^{de}	2.34±0.31 ^d
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	0.1044±0.0038 ^a	5.86±0.04 ^g	16.25±0.04 ^c	23.00±0.24 ^c	1.84±0.19 ^{ab}
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	0.1584±0.0026 ^f	5.44±0.11 ^f	17.06±0.12 ^g	23.17±0.03 ^{cd}	1.85±0.18 ^{ab}
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	0.1210±0.0057 ^c	5.45±0.06 ^f	15.58±0.04 ^d	23.28±0.09 ^{de}	1.85±0.20 ^{ab}
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	0.1150±0.0047 ^b	5.32±0.07 ^c	16.53±0.15 ^f	18.57±0.06 ^a	1.65±0.14 ^a
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	0.1418±0.0041 ^d	5.46±0.01 ^f	17.33±0.13 ^h	20.47±0.17 ^b	1.95±0.45 ^b
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	0.1552±0.0028 ^e	5.17±0.01 ^d	14.68±0.13 ^c	23.25±0.18 ^{cd}	2.05±0.21 ^{bc}
ฟอสฟอรัส	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
แคลเซียม	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

¹ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.7 ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

ฟอสฟอรัสในซีรัมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 12 จากการวิเคราะห์พบว่าฟอสฟอรัสในซีรัมของปลานิลแดงแปลงเพศมีค่าอยู่ในช่วง 15.7 ± 0.71 ถึง 22.65 ± 2.47 mg/l

การวิเคราะห์แคลเซียมในซีรัมของปลานิลแดงแปลงเพศมีค่าอยู่ในช่วง 13.35 ± 0.64 ถึง 14.75 ± 1.77 mg/l

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศมีค่าอยู่ในช่วง 18.00 ± 1.41 ถึง 25.50 ± 9.19 IU/l

ตารางที่ 12 ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	ซีรัมฟอสฟอรัส (mg/l)	ซีรัมแคลเซียม (mg/l)	กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (IU/l)
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	20.05±6.15	14.65±1.34	21.50±0.71
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	20.9±1.98	13.85±0.92	22.50±3.54
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	15.7±0.71	13.65±0.35	18.00±1.41
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	21.6±3.82	14.75±1.77	22.50±3.54
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	19.55±0.35	13.75±0.21	23.50±3.54
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	20.25±1.34	14.4±1.41	19.50±4.95
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	21.75±0.21	13.65±0.64	18.00±1.41
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	22.65±2.47	13.35±0.64	23.50±2.12
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	18.55±0.35	13.65±1.06	25.50±9.19
ฟอสฟอรัส	NS	NS	NS
แคลเซียม	NS	NS	NS
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.8 คำนีตบตอตัวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ไดรับอาหารที่มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับตางๆ กัน

คำนีตบตอตัวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ไดรับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารตัง 9 สูตร ใ้ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13 จากการวิเคราะห์พบว่คำนีตบตอตัวของปลานิลแดงแปลงเพศมีค่าอยู่ในช่วง 1.67 ± 0.41 ถึง 2.51 ± 0.87 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 13 คำนีตบตอตัวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ไดรับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับตางๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	คำนีตบตอตัว (%)
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	2.51 ± 0.87
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	2.11 ± 0.80
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	1.95 ± 0.67
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	1.79 ± 0.48
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	1.89 ± 0.55
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	2.09 ± 0.46
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	2.11 ± 0.46
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	1.67 ± 0.41
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	1.95 ± 0.45
ฟอสฟอรัส	NS
แคลเซียม	NS
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 6 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสมภที่มืตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ใ้ไมมีความตแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p > 0.05$)

3.2.9 ส่วนประกอบทางโภชนาการของตัวปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวที่ได้รับ

อาหารที่มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 14 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ ค่าโปรตีนไขมัน และฟอสฟอรัสไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) มีค่าโปรตีน และฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวสูงที่สุด ส่วนปริมาณไขมันในตัวต่ำที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 54.62 ± 1.83 ถึง 56.21 ± 0.35 เปอร์เซ็นต์ 2.36 ± 0.02 ถึง 3.16 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ และ 20.68 ± 0.49 ถึง 21.84 ± 0.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) มีปริมาณของฟอสฟอรัสสะสมในตัวต่ำที่สุด และมีปริมาณไขมันในตัวสูงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.05 ± 0.22 ถึง 2.30 ± 0.38 เปอร์เซ็นต์ และ 23.79 ± 1.91 ถึง 27.55 ± 1.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนค่าความชื้น เถ้า และแคลเซียมของตัวปลาทั้งตัว พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยความชื้นของปลาทั้งตัวอยู่ในช่วง 70.74 ± 0.74 ถึง 74.27 ± 0.85 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีความชื้นในตัวปลาสูงที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) ค่าเถ้าของตัวปลาทั้งตัวอยู่ในช่วง 10.83 ± 0.16 ถึง 16.98 ± 0.17 เปอร์เซ็นต์ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) และ ($AvCa = 0.6$) มีเถ้าในตัวสูงที่สุด คืออยู่ในช่วงระหว่าง 16.43 ± 0.45 ถึง 16.98 ± 0.17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) สำหรับการสะสมของแคลเซียมในตัวปลาทั้งตัวอยู่ในช่วง 3.30 ± 0.01 ถึง 5.86 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีค่าแคลเซียมสูงที่สุดคือ 5.86 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) สำหรับค่าไขมันในตับอยู่ในช่วง 13.52 ± 1.14 ถึง 23.85 ± 0.79 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีไขมันในตับต่ำที่สุด คือ 13.52 ± 1.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 14 ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัวที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ (เปอร์เซ็นต์)¹

ชุดทดลอง	คุณค่าทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัว (% ของปลานิลแดงทั้งตัว)						
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม	ไขมันในตับ
ปลาก่อนทดลอง	70.94±1.26	45.26±0.90	31.57±2.44	9.91±0.10	1.79±0.31	3.32±0.02	18.47±1.87
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	73.54±0.24 ^{cd}	54.35±0.82 ^b	25.00±3.18 ^c	11.61±0.33 ^b	2.05±0.22 ^a	4.48±0.03 ^c	23.34±1.36 ^c
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	72.18±0.76 ^{abc}	54.59±0.53 ^b	27.55±1.07 ^c	10.83±0.16 ^a	2.17±0.13 ^a	3.30±0.01 ^a	20.97±1.10 ^{de}
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	72.99±1.35 ^{bcd}	53.13±0.77 ^b	23.79±1.91 ^c	12.93±0.26 ^c	2.30±0.38 ^a	4.11±0.02 ^b	23.85±0.79 ^c
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	74.27±0.85 ^d	52.75±0.63 ^a	22.79±0.87 ^b	15.36±0.62 ^d	2.63±0.11 ^b	5.86±0.04 ^e	16.92±1.12 ^{bc}
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	70.74±0.74 ^a	52.61±1.35 ^a	24.77±1.08 ^b	15.42±0.35 ^d	2.69±0.17 ^b	5.44±0.11 ^f	14.66±2.82 ^{ab}
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	72.71±1.61 ^{bcd}	51.66±1.52 ^a	22.11±1.80 ^b	15.14±0.60 ^d	2.55±0.37 ^b	5.45±0.06 ^f	23.38±1.30 ^e
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	73.01±0.45 ^{bcd}	56.21±0.35 ^c	20.68±0.49 ^a	16.43±0.45 ^c	2.92±0.27 ^b	5.32±0.07 ^c	13.52±1.14 ^a
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	73.41±1.00 ^{bcd}	55.66±1.90 ^c	20.71±1.62 ^a	16.98±0.17 ^c	3.11±0.38 ^b	5.46±0.01 ^f	18.35±2.55 ^{cd}
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	71.59±0.83 ^{ab}	54.62±1.83 ^c	21.84±0.30 ^a	15.55±0.19 ^d	3.16±0.02 ^b	5.17±0.01 ^d	17.95±0.29 ^c
ฟอสฟอรัส	NS	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
แคลเซียม	<0.05	NS	NS	NS	NS	<0.05	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	<0.05	<0.05

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์หาค่าอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.10 ส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 15 ค่าความชื้น โปรตีน และฟอสฟอรัสของปลาไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.6$) มีความชื้นในเนื้อปลาสุงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 75.97 ± 0.74 ถึง 76.94 ± 0.67 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) มีโปรตีนในเนื้อสูงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 79.59 ± 1.17 ถึง 80.39 ± 0.63 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการสะสมฟอสฟอรัสในเนื้อปลาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง และกลุ่มการทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ส่วนค่าไขมัน เถ้า และแคลเซียมของเนื้อปลา พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) โดยค่าไขมันของเนื้อปลาอยู่ในช่วง 4.79 ± 0.29 ถึง 8.40 ± 1.30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีค่าไขมันในเนื้อต่ำที่สุด คือ 4.79 ± 0.29 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีเถ้าในเนื้อสูงที่สุด คือ 6.85 ± 0.29 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) สำหรับการสะสมของแคลเซียมในเนื้อปลาอยู่ในช่วง 0.1043 ± 0.0076 ถึง 0.1621 ± 0.0025 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการสะสมของแคลเซียมในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีการสะสมของแคลเซียมในเนื้อสูงที่สุด คือ 0.1621 ± 0.0025 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 15 ส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ (เปอร์เซ็นต์)¹

ชุดทดลอง	คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ (%ของเนื้อปลานิล)					
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม
เนื้อก่อนทดลอง	73.57±0.85	77.25±2.21	6.04±0.38	4.74±0.01	0.74±0.02	0.0167±0.0056
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	75.92±0.19 ^{xy}	77.70±0.67 ^{ab}	6.21±0.61 ^{ab}	6.03±0.23 ^{bc}	0.88±0.05	0.1621±0.0025 ^g
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	75.97±0.74 ^y	78.50±1.51 ^{ab}	6.71±0.22 ^{abc}	5.83±0.08 ^b	0.87±0.08	0.1163±0.0042 ^b
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	75.64±0.07 ^x	77.75±2.32 ^{ab}	7.56±1.80 ^{bc}	5.51±0.05 ^a	0.84±0.08	0.1043±0.0076 ^a
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	76.11±0.41 ^{xy}	76.75±4.12 ^a	8.40±1.30 ^c	5.26±0.06 ^a	0.95±0.11	0.1044±0.0038 ^a
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	76.61±0.50 ^y	78.68±2.03 ^a	6.46±1.03 ^{abc}	6.01±0.15 ^{bc}	0.89±0.10	0.1584±0.0026 ^f
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	75.77±0.75 ^x	76.70±2.37 ^a	5.79±0.94 ^{ab}	6.24±0.18 ^c	0.93±0.03	0.1210±0.0057 ^c
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	76.08±0.16 ^{xy}	79.65±1.46 ^b	4.79±0.29 ^a	6.14±0.14 ^c	0.90±0.08	0.1150±0.0047 ^b
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	76.94±0.67 ^y	79.59±1.17 ^b	6.26±1.89 ^{ab}	6.14±0.12 ^c	0.90±0.07	0.1418±0.0041 ^d
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	76.00±0.34 ^x	80.39±0.63 ^b	5.96±0.31 ^{ab}	6.85±0.29 ^d	0.96±0.02	0.1552±0.0028 ^c
ฟอสฟอรัส	NS	<0.05	<0.05	<0.05	NS	<0.05
แคลเซียม	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	NS	NS	<0.05	<0.05	NS	<0.05

¹ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.11 การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่จับทั้ง ฟอสฟอรัสที่จับทั้งทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่จับทั้งในรูปของแข็ง และฟอสฟอรัสที่จับทั้งในรูปของสารละลาย ของปลานิลแดง แปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับต่างๆ กัน

จากการคำนวณปริมาณการสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย ฟอสฟอรัสที่ถูกจับทั้ง ฟอสฟอรัสที่ถูกจับทั้งรวมทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปของแข็งที่เป็นของแข็ง และฟอสฟอรัสที่ถูกจับทั้งในรูปสารละลายรวมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้จำนวน 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงดังในตารางที่ 16

ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้นั้นค่าของฟอสฟอรัสจับทั้งในรูปของแข็งของปลานิลแดงแปลงเพศไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างกลุ่มของปลาที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ และไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง และกลุ่มการทดลองทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมอยู่ระหว่าง 35.22 ± 0.45 ถึง 46.75 ± 5.70 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีการสะสมของฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาสูงที่สุดคือ 46.75 ± 5.70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีฟอสฟอรัสที่สะสมต่ำที่สุดคือ 35.22 ± 0.45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่จับทั้งของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่จับทั้งอยู่ระหว่าง 4.74 ± 1.43 ถึง 18.60 ± 3.59 กรัมต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีฟอสฟอรัสจับทั้งสูงที่สุดคือ 18.60 ± 3.59 กรัมต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.6$) และ ($AvCa = 0.9$) มีฟอสฟอรัสที่จับทั้งต่ำที่สุดคือ 4.79 ± 0.64 และ 4.74 ± 1.43 กรัมต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่จับทั้งทั้งหมดในปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกัน

ระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่จับทั้งหมดอยู่ระหว่าง 6.17 ± 0.64 ถึง 13.62 ± 0.84 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีค่าฟอสฟอรัสจับทั้งหมดสูงที่สุด คือ 13.62 ± 0.84 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$), ($AvCa = 0.6$) และ ($AvCa = 0.9$) มีฟอสฟอรัสที่จับทั้งหมดต่ำที่สุด คือ อยู่ในช่วง 6.17 ± 0.64 ถึง 6.47 ± 0.16 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ปริมาณฟอสฟอรัสจับในรูปของสารละลาย พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ การเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p < 0.05$) พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่จับทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.62 ± 0.06 ถึง 6.33 ± 0.80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.9$) มีค่าฟอสฟอรัสจับสูงที่สุด คือ 6.33 ± 0.80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) และ ($AvCa = 0.9$) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvCa = 0.3$) มีฟอสฟอรัสที่จับทั้งหมดในรูปของสารละลายต่ำที่สุดคือ 0.62 ± 0.06 และ 0.62 ± 0.15 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 16 การสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่จับที่ ฟอสฟอรัสที่จับที่ทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่จับที่ในรูปของแข็ง และฟอสฟอรัสที่จับที่ในรูปของสารละลาย ของ ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ที่ระดับต่างๆ กันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์¹

ชุดทดลอง	การสะสม ฟอสฟอรัส (%)	ฟอสฟอรัสจับที่ (g/kg fish gain)	ฟอสฟอรัสจับที่ทั้งหมด (g/kg diet)	ฟอสฟอรัสจับที่ใน รูปของแข็ง (g/kg diet)	ฟอสฟอรัสจับที่ใน รูปสารละลาย(g/kg diet)
(T1)AvP 0.3/ AvCa 0.3	40.08±1.45 ^{bcd}	5.23±0.39 ^{ab}	6.47±0.16 ^a	5.85±0.00	0.62±0.15 ^a
(T2)AvP 0.3/ AvCa 0.6	44.27±2.38 ^{de}	4.97±0.64 ^a	6.29±0.27 ^a	5.53±0.00	0.76±0.27 ^a
(T3)AvP 0.3/ AvCa 0.9	46.75±5.70 ^c	4.74±1.43 ^a	6.17±0.64 ^a	5.55±0.00	0.62±0.06 ^a
(T4)AvP 0.7/ AvCa 0.3	35.22±0.45 ^{ab}	9.92±0.30 ^{cd}	11.47±0.08 ^c	7.67±0.00	3.80±0.08 ^c
(T5)AvP 0.7/ AvCa 0.6	43.72±3.15 ^{de}	7.96±1.13 ^{bc}	9.40±0.53 ^b	6.71±0.00	2.69±0.53 ^b
(T6)AvP 0.7/ AvCa 0.9	36.72±1.45 ^{abc}	9.41±0.68 ^{cd}	10.82±0.24 ^c	6.96±0.00	3.86±0.25 ^c
(T7)AvP 0.9/ AvCa 0.3	38.05±1.76 ^{ab}	11.74±2.53 ^d	12.59±0.80 ^d	6.26±0.00	6.33±0.80 ^c
(T8)AvP 0.9/ AvCa 0.6	41.83±0.45 ^{cde}	8.93±0.18 ^{cd}	10.87±0.08 ^c	5.66±0.00	5.21±0.09 ^d
(T9)AvP 0.9/ AvCa 0.9	35.86±1.31 ^a	18.60±3.59 ^c	13.62±0.84 ^c	7.60±0.00	6.02±0.84 ^{de}
ฟอสฟอรัส	<0.05	<0.05	<0.05	NS	<0.05
แคลเซียม	<0.05	<0.05	<0.05	NS	<0.05
ฟอสฟอรัส × แคลเซียม	<0.05	<0.05	<0.05	NS	<0.05

¹ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการคำนวณ)

ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาโมโน โซเดียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนตที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศให้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$ และ $AvCa = 0.3$, $AvCa = 0.6$ และ $AvCa = 0.9$) ส่งผลให้ปลานิลแดงแปลงเพศมีการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ที่ดี และมีฟอสฟอรัสที่เก็บสะสมในตัวปลา เกล็ดปลาเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกับปลาที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$ และ $AvCa = 0.3$, $AvCa = 0.6$ และ $AvCa = 0.9$) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ye และคณะ (2006) ที่ได้ทดลองเรื่องผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (เสริม และไม่เสริมฟอสฟอรัส) ในปลากะรังระยะวัยรุ่น พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมฟอสฟอรัสและไม่เสริมแคลเซียมแสดงการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และปริมาณเถ้าลดลง การสะสมของแร่ธาตุจำพวกแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียมในเกล็ด กระดูกสันหลัง และไขมันที่สะสมในตัวปลาเพิ่มขึ้น ขณะที่สูตรอาหารที่ไม่มีการเสริมฟอสฟอรัสและมีการเสริมแคลเซียมที่ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณเถ้าในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือกมีการสะสมของแร่ธาตุจำพวกแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสีในเกล็ดเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้น และโปรตีนในตับต่ำ ขณะที่เสริมแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารที่ 0.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณเถ้า และการสะสมแร่ธาตุภายในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือก แต่การเสริมแคลเซียมมากกว่า 1.2 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทางลบต่อการเจริญเติบโต การสะสมแร่ธาตุจำพวกแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสีในเกล็ดมีปริมาณ เช่นเดียวกับ Chavez-Sanchez และคณะ (2000) ที่ได้ทดลองเรื่องผลของฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลา American cichlid ซึ่งสอดคล้องกับ Andrews และคณะ (1973) พบว่าในสภาวะการขาดฟอสฟอรัสอาจไปลดเถ้าในกระดูกของปลา channel catfish ขณะที่ Ketola (1975) พบว่าการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของเถ้าในกระดูกของปลา Atlantic salmon Watanabe และคณะ (1980a; 1980b) พบว่าเมื่อเสริมฟอสฟอรัสในอาหารสูงขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มของเถ้า และการสะสมของแร่ธาตุจำพวกฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูกเพิ่มขึ้น

ในแง่ของการเจริญเติบโตพบว่าการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารพบว่าค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับอาหารที่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ แต่ปัจจัยแต่ละตัวส่งผลต่อน้ำหนัก

เฉลี่ยของปลาทดลอง โดยการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ในอาหารเริ่มส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$ และ $AvCa = 0.3$, $AvCa = 0.6$ และ $AvCa = 0.9$) มีน้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง (specific growth rate) ซึ่งต่างกับปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$ และ $AvCa = 0.3$, $AvCa = 0.6$ และ $AvCa = 0.9$) และไม่มี ความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$ และ $AvCa = 0.3$, $AvCa = 0.6$ และ $AvCa = 0.9$) ซึ่งมีปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ไม่เพียงพอ กับความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศ ($AvP = 0.3$) และมีปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้สูงเกินกว่าความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศ ($AvP = 0.9$) โดยพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ ($AvP = 0.7$) ให้ผลการเจริญเติบโตต่อปลานิลแดงแปลงเพศดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ Phromkunthong และ Udom (2008) ที่ได้ทดลองเรื่องความต้องการฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศ เมื่อใช้โคแคลเซียมฟอสเฟต (DCP) เสริมในอาหาร เพื่อศึกษาปริมาณความต้องการฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศโดยใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหารกับฟอสฟอรัสในกระดูก พบว่าความต้องการฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหารคือ 1.34 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.76 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ทำให้การเจริญเติบโตที่ดีและเหมาะสมในการทดลอง เพราะส่งผลให้มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน) สูงขึ้นตามระดับฟอสฟอรัสในอาหารที่เพิ่มขึ้น ส่วนการเสริมฟอสฟอรัสมีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวปลา เกิดและกระดูกสันหลังมีค่าสูงขึ้น ส่วนไขมันในเนื้อปลา ตัวปลา และตับของปลามีค่าลดลง เมื่อระดับฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Roy และ Lall (2003) ที่ทดลองเรื่องความต้องการฟอสฟอรัสของปลาเฮ็ดดอก พบว่าปลาเฮ็ดดอกมีความต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เหมาะสม คือ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Vielma และคณะ (2002) พบว่าการขาดฟอสฟอรัสในปลาส่งผลให้องค์ประกอบของไขมันในตัวปลาเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Takeuchi และ Nakazoe (1981) กล่าวว่าระดับของฟอสฟอรัสในอาหารส่งผลต่อความชื้น ไขมันในตัวปลา และเครื่องในรวมของปลาคาร์พ และ Onishi และคณะ (1981) กล่าวว่า การขาดฟอสฟอรัสส่งผลให้การสะสมไขมันในกล้ามเนื้อ และเครื่องในรวม และกิจกรรมของเอนไซม์ในตับเพิ่มขึ้น จากผลของการศึกษาคาดว่าการสังเคราะห์กรดไขมันเกิดขึ้นในวัฏจักรเครบส์ (TCA cycle) ซึ่งเมื่อขาดฟอสฟอรัสทำให้การนำไขมันไปใช้ในการผลิตพลังงานลดลง และไขมันมีการสะสมมากขึ้น (El-Zibdeh *et al.*, 1995; Rodeshutsord, 1996; Roy and Lall, 2003) นอกจากนี้พบว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อระดับไขมัน

ในดับ (Yang, 2006) สำหรับการศึกษาความต้องการแคลเซียมของปลานิลแดงแปลงเพศนั้น สอดคล้องกับการทดลองของ Robinson และคณะ (1987) กล่าวว่าปลานิลระยะปลานิวมีความต้องการแคลเซียมที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และในการศึกษาของ David และ Robinson (1987) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของปลานิลมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับของแคลเซียมในอาหารมากกว่า 0.7 เปอร์เซ็นต์ แต่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Robinson และคณะ (1986) ศึกษาความต้องการแคลเซียมของปลากดอเมริกันมีความต้องการอยู่ในช่วง 0.17-0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้ระดับของฟอสฟอรัสที่ คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตและความต้องการแคลเซียมในอาหารที่เหมาะสม คือ 0.45 เปอร์เซ็นต์

สำหรับการศึกษาดัชนีดับต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างในทุกชุดการทดลอง ($P > 0.05$) ส่วนการศึกษาไขมันในดับของปลานิลแดงแปลงเพศนั้น พบว่ามีความแตกต่างของระดับไขมันในดับ โดยปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$ เปอร์เซ็นต์) มีแนวโน้มของการสะสมของไขมันในดับสูงที่สุด เมื่อพิจารณาจากระดับการเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ระดับไขมันในดับของปลานิลแดงแปลงเพศต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ye และคณะ (2006) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัสส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความอยากกินอาหาร และปริมาณถ่ายคลง การสะสมของแร่ธาตุจำพวกแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียมในเกล็ดและกระดูกเพิ่มขึ้น และมีไขมันสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yang (2006) กล่าวว่าเมื่อขาดฟอสฟอรัสอาจส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของไขมันในดับ

โดยทั่วไปการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการเผาผลาญแร่ธาตุจำพวกแคลเซียม และฟอสฟอรัส เพื่อใช้ในกระบวนการสร้างกระดูกอ่อนและกระดูกแข็งภายในร่างกายซึ่งพบได้ทั้งสัตว์บกและสัตว์น้ำ (Vinueza *et al.*, 1991) แต่โดยมากกิจกรรมการสร้างกระดูกส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมมากขึ้น และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในสัตว์ชั้นสูงมีค่ามากกว่าสัตว์ชั้นต่ำ (Kaplan, 1972 อ้างโดย Lewis-McCrea และ Lall 2007) จากการทดลองในปลานิลแดงแปลงเพศพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าระดับของฟอสฟอรัสที่เสริมในอาหารไม่มีความสัมพันธ์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shearer และ Hardy (1987); Cashman และ Flynn (1999) โดยไม่พบความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลาเรนทโบว์ เทราท์ ที่ได้รับอาหารที่มีระดับของฟอสฟอรัสต่างๆ กัน ในขณะ ที่การศึกษาของ Skonberg และคณะ (1997), Zhang และคณะ (2006) พบว่าระดับกิจกรรมของ

เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้น เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้นเนื่องจากการสะสมแร่ธาตุในกระดูกเพิ่มมากขึ้นในปลา Japanese seabass (*Lateolabrax Japonicus*) และส่งผลต่อระดับของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงกว่าที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ จากการศึกษาพบว่าระดับของฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอาหารไม่มีผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพราะปัจจัยภายนอกบางอย่าง เช่น คุณสมบัติทางเคมีของน้ำและการจัดการคุณภาพน้ำ (Bowser *et al.*, 1989) ปริมาณอาหารที่กินและอุณหภูมิของน้ำ (Sauer and Haider, 1979) ขนาดและอายุของสัตว์น้ำ (Johnston *et al.*, 1994)

จากการศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมพบว่ามีความสัมพันธ์กันคือ มีค่าอยู่ในช่วง 15.7-22.65 mg/l พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($p>0.05$) สำหรับในกรณีนี้อาจคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Rodehutsord (1996); Sugiura และคณะ (2000) กล่าวว่าปลาเรนทโบว์ เทราท์ มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสในเลือดสัมพันธ์กับระดับพลังงานของเลือด และกล้ามเนื้อ นอกจากนี้พบว่าค่าการเก็บตัวอย่างของฟอสฟอรัสในปลาของแต่ละช่วงของวันนั้นมีความแตกต่างกัน โดยระดับของฟอสฟอรัสในปลาสมามีค่าคงที่ที่สุดหลังจากปลาได้รับอาหาร แต่ Shitada และคณะ (1979) พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมของปลาคาร์พมีค่าสูงสุดหลังจากได้รับอาหารไปแล้ว 1 ชั่วโมงเท่านั้นหลังจากนั้นค่าจะลดลงอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารมีความสัมพันธ์กับระดับของฟอสฟอรัสในซีรัม ซึ่งขัดแย้งกับ Skonberg และคณะ (1997) กล่าวว่าฟอสฟอรัสในซีรัมของปลาเรนทโบว์ เทราท์ ไม่ได้ขึ้นอยู่กับระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร แต่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ ประการทางกายภาพและทางชีวภาพ ดังเช่น ความเครียด สิ่งรบกวนจากภายนอก และความถี่ในการให้อาหาร แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นต้องศึกษาฟอสฟอรัสในซีรัมควบคู่ไปกับการศึกษาการเจริญเติบโต และองค์ประกอบของฟอสฟอรัสในส่วนต่างๆ ของร่างกาย (Sugiura *et al.*, 2004)

จากการศึกษาปริมาณแคลเซียมในซีรัมพบว่าระดับแคลเซียมคาร์บอนेटในอาหารมีแนวโน้มใกล้เคียงกันคือ มีค่าอยู่ในช่วง 13.5-14.75 mg/l พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($p>0.05$) สำหรับในกรณีนี้อาจคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Shiau และ Tseng (2007) พบว่าแคลเซียมในซีรัมอยู่ในช่วง 15.1-16.7 mg/l มีความเหมาะสมซึ่งเป็นสภาวะสมดุลของระดับแคลเซียมในตัวปลา โดยใช้สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นเกณฑ์ในการวัดระดับของแคลเซียมในกระดูก ซึ่งมีฮอร์โมนสำคัญในการควบคุมความเข้มข้นของแคลเซียมในปลา 2 ตัว คือ parathyroid hormone (PTH) และ thyrocalcitonin โดย PTH สร้างจากพาราไทรอยด์ มีผลทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมในปลาสูงขึ้น ซึ่งกระตุ้นการแยกสลายกระดูกออสติโอคลาสต์ (osteoclast) และออสติโอไซต์ (osteocyte) นอกจากนี้ฮอร์โมนยังสามารถเร่งการขับฟอสเฟต และกดการ

ขับแคลเซียมออกสู่ปัสสาวะในไต ซึ่งทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดสูง และฮอร์โมนนี้สามารถเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจากอาหารและน้ำผ่านทางลำไส้โดยมีวิตามินดีเป็นตัวช่วย (Guyton, 1971; Perry *et al.*, 1992 อ้างโดย Shiau and Tseng 2007) ส่วน thyrocalcitonin สร้างจากต่อมไทรอยด์เป็นฮอร์โมนที่ทำงานตรงกันข้ามกับ PTH คือ ทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมในพลาสมาลดลง (Fleming, 1967; Pang, 1973 อ้างโดย Shiau and Tseng 2007)

จากการทดลองการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับต่างๆ ลงในอาหารนั้นขออธิบายแยกระหว่างการใช้ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบและสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส คือจากการทดลองเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่ขาด เหมาะสม และเกินความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศนั้นพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมระดับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นมีสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบเพิ่มขึ้นโดยมีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.7) และ (AvP = 0.9) มีสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบดีกว่าฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.3) นั้นเนื่องจากโมโนโซเดียมฟอสเฟตมีคุณสมบัติละลายน้ำและแตกตัวได้ดี ดังนั้นประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้ดี (Watanabe *et al.*, 1988; NRC, 1993; Hernandez *et al.*, 2005) สำหรับการเสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ระดับขาด เหมาะสม และเกินความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศนั้นที่ระดับแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3) ให้สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบที่ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ogino และ Takeda (1976) ในการใช้แคลเซียมปริมาณน้อยและใช้ฟอสฟอรัสปริมาณที่เพียงพอในอาหารปลาคาร์พส่งผลให้ฟอสฟอรัสและแคลเซียมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และสอดคล้องกับ Nakamura (1982) ซึ่งกล่าวว่าการเพิ่มแคลเซียมในอาหารส่งผลในทางลบต่อการดูดซึมฟอสฟอรัสซึ่งขัดแย้งกับ Sakamoto และ Yone (1973) กล่าวว่าการใช้แคลเซียมสูงเกินกว่าฟอสฟอรัสในอาหารสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตในปลารดซึบรึมในระยะปลานิว ส่วนสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสนั้นการเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับขาด เหมาะสม และเกินความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศนั้นพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.7) และ (AvP = 0.9) มีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสดีกว่าปลาที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.3)

จากการทดลองครั้งนี้พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับโมโนโซเดียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนตที่มีระดับเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในเกล็ด และกระดูกสันหลังเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดลองนั้นแสดงให้เห็นว่าระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสในอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ จากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยโมโนโซเดียมฟอสเฟตที่ระดับ 1.35 เปอร์เซ็นต์ ที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้

ประโยชน์ได้ (AvP = 0.9) และการเสริมแคลเซียมคาร์บอเนตที่ระดับ 0.71, 1.01 และ 1.17 ที่เสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3, AvCa = 0.6 และ AvCa = 0.9) เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในระดับสูงที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Chavez-Sanchez และคณะ (2000); Paul และคณะ (2004) กล่าวว่าความต้องการฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลา (American cichlid) มีสัดส่วนที่เหมาะสมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสอยู่ที่ระดับ 1.33:1 ช่วยเพิ่มระดับแคลเซียมและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตและการสะสมแร่ธาตุของกระดูกสันหลังเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Ye และคณะ (2006); Paul และคณะ (2004) กล่าวว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัสนั้นพบว่าการสะสมของแร่ธาตุในเกล็ด และกระดูกสันหลังเพิ่มขึ้น เมื่อไม่มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมในระดับที่เหมาะสม ปริมาณเถ้าในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือกมีการสะสมของแร่ธาตุในเกล็ดเพิ่มขึ้น ขณะที่การเสริมแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารในสัดส่วน 1:1 นั้น พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณเถ้า และการสะสมแร่ธาตุในเกล็ดและกระดูกปิดเหงือก แต่การเสริมแคลเซียมในปริมาณสูงเกินความต้องการส่งผลในทางลบต่อการสะสมแร่ธาตุในเกล็ด กระดูกสันหลัง และการเจริญเติบโตลดลง Nelson และ Walker (1964); Ketaren และคณะ(1993) กล่าวว่าในสัตว์ต่างๆ ไปปริมาณของเถ้าในกระดูกสันหลังเป็นตัวชี้ให้ทราบถึงประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ เช่นเดียวกับในปลาน้ำจืด (Ketola, 1975; Watanabe *et al.*, 1980a; 1980b) และในปลาน้ำเค็ม (Sakamoto and Yone, 1978; Borlongan and Satoh, 2001) ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบหลักในกระดูกชั้น extracellular matrix นั้นมีไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_2$) ชนิดเดี่ยว หรือ ผสมกันระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์และแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปริมาณสูงมากกว่าอวัยวะส่วนอื่นๆ ดังนั้นกระดูกจึงเป็นแหล่งสะสมแร่ธาตุที่สำคัญ ซึ่งจากการศึกษาความต้องการสารอาหารในระดับที่เหมาะสม หรือเพียงพอต่อความต้องการต่อกระบวนการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุในกระดูก (Davis and Robinson, 1987; Robinson *et al.*, 1987; Skongberg *et al.*, 1997; Chavez-Sanchez *et al.*, 2000; Mai *et al.*, 2006)

องค์ประกอบทางโภชนาการของตัวปลาและเนื้อปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสและแคลเซียมระดับต่างๆ กันจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP = 0.7) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa = 0.3), (AvCa = 0.6) และ (AvCa = 0.9) เป็นระดับที่เหมาะสมขององค์ประกอบของ ฟอสฟอรัส และแคลเซียมที่สะสมในปลา และสำหรับการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของตัวปลา และเนื้อปลา พบว่าความชื้นไม่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารที่เพิ่มขึ้น และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ในระหว่างชุดการทดลองทั้งหมด ส่วนระดับไขมันในตัวปลาพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณลดลงเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น

แสดงให้เห็นว่าระดับฟอสฟอรัสในอาหารมีความสัมพันธ์กับระดับการสะสมไขมันในร่างกาย ซึ่งสอดคล้องกับหลายๆ การทดลองเช่น Sakamoto และ Yone (1978), Takeuchi และ Nakazoe (1981), Eya และ Lovell (1997a; 1997b) Chavez-Sanchez และคณะ (2000) Vielma และคณะ (2002) กล่าวว่า การขาดฟอสฟอรัสในปลาส่งผลให้องค์ประกอบทางไขมันในปลาเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเผาผลาญของสารอาหาร (intermediate mechanism) ภายในร่างกาย มากกว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณอาหารที่กินเพราะเชื่อว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการพยายามกินอาหารเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งเมื่อพิจารณาจากอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเพิ่มสูงขึ้นพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่เพียงพอต่อความต้องการ สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนีพบว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างไขมัน และฟอสฟอรัส และสอดคล้องกับการศึกษาของ Roy และ Lall (2003) กล่าวว่าปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารที่ระดับต่างๆ กัน พบว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการส่งผลให้ไขมันในตัวปลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสลายกรดไขมัน (β -oxidation) เป็นปฏิกิริยาการสลายไขมันให้เกิดพลังงานในร่างกายโดยอาศัยกระบวนการสร้างพลังงานจากกรดไขมันที่สะสมอยู่รอบๆ ไมโทคอนเดรีย (extra-mitochondrial fatty acids) ภายในเซลล์ โดยจำนวน 1 โมเลกุลของกรดไขมันถูกดึงเพื่อนำไปใช้โดยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ 2 กระบวนการ คือ เอทีพี-ไดรเวน เอสเทอร์ริฟิเคชัน (ATP-driven esterification) กับเอกซ์ตราไมโทคอนเดรีย (extra-mitochondria) ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นแฟตตีเอซิลโคเอ (fatty acyl-CO A) ซึ่งเป็นผลผลิตที่ให้พลังงานสูงโดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นในวัฏจักรเครบส์ (TCA cycle) จากการทดลองปลาที่ขาดฟอสฟอรัสถูกยับยั้งในกระบวนการที่กล่าวข้างต้นในวัฏจักรเครบส์ส่งผลต่อการนำไขมันไปใช้ในการผลิตพลังงานลดลง และไขมันมีการสะสมมากขึ้น นอกจากนี้พบว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อระดับไขมันในตับ (Yang, 2006) กล้ามเนื้อ และกระดูก (Eya and Lovell, 1997a; 1997b) ซึ่งจากการศึกษาของ Yang (2006) พบว่าระดับของไตรกรีเซอไรด์ของไขมันในตับเพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่ได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอต่อความต้องการ แต่กลับพบว่าระดับของฟอสฟาติลโคลีน (Phosphatidly choline) และฟอสฟาติลเอทโนลามีน (Phosphatidyl ethinolamine) เพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ ในปลา silver perch (*Bidyanus bidyanus*) และในการศึกษาของ Takeuchi และ Nakazoe (1981) พบว่าไขมันไม่มีขั้ว (non polar lipie) ในตับอ่อนมีค่าสูงในปลาคาร์พเมื่อรับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสในระดับต่ำ ส่วน Roy และ Lall (2003) ฟอสฟอรัสระดับต่ำส่งผลให้ไขมันเพิ่มขึ้น แต่พบว่าระดับโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของตัวปลาเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลาชนิดแดงแปลงเพศในครั้งนีโดยพบว่าองค์ประกอบของโปรตีนของตัวปลามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อ

มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพิ่มสูงขึ้น และ El-Zibdeh และคณะ (1995) กล่าวว่าฟอสฟอรัสในอาหารมีอิทธิพลต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลาแบล็กซีบริม โดยระดับของฟอสฟอรัสในอาหารไปเพิ่มกระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมัน

สำหรับโปรตีนในตัวปลาและเนื้อปลานั้นพบว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) นั้นมีโปรตีนสะสมในตัวปลาและเนื้อปลาสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ NRC (1993); Eya and Lovell (1997a); Lovell (1998); Ciofalo *et al.* (2003) รายงานว่าการให้อาหารปลาที่เสริมฟอสฟอรัสสูงส่งผลต่อการเพิ่มการสะสมไนโตรเจนจึงสามารถเพิ่มการสะสมของโปรตีนซึ่งการสะสมของโปรตีนจะไปลดการสะสมปริมาณไขมัน ซึ่งการลดลงของไขมันในกล้ามเนื้อเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของโปรตีน สำหรับโปรตีนนั้นปลานำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอต่างๆ ในร่างกาย ในขณะที่ปลาได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสในอาหารในระดับต่ำนั้นพบว่าปลานำโปรตีนที่ได้รับไปใช้สลายพลังงานแทนการใช้ไขมัน (protein sparing effects) อันสืบเนื่องมาจากการได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอส่งผลให้ระดับโปรตีนของตัวปลามีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสในระดับปกติที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Henry และคณะ (1979) พบว่าหนูที่ได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการส่งผลต่อการสะสมไนโตรเจน (nitrogen retention) ทำให้การสะสมโปรตีนในร่างกายลดลงเนื่องจากอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะไปจำกัดจำนวนของนิวคลีโอไทด์ที่ทำหน้าที่สร้างและสังเคราะห์โปรตีน

Sakamoto และ Yone (1978) ทำการทดลองในปลาเรดซีบริมไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างฟอสฟอรัสต่อองค์ประกอบทางเคมีภายในร่างกายเช่น เถ้า ไขมัน และปริมาณฟอสฟอรัสในตัวปลา ทั้งนี้เนื่องจากการออกแบบการทดลองที่เสริมปริมาณของฟอสฟอรัสในช่วงแคบส่งผลให้ระดับของฟอสฟอรัสในอาหารไม่เพียงพอสำหรับความต้องการของปลา สำหรับปริมาณไขมันในตับจากการทดลองพบว่าปริมาณการสะสมไขมันในตับมีแนวโน้มลดลง เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Yone-Sulem และคณะ (2006) สำหรับปริมาณเถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมในตัวปลาสามารถใช้เป็นดัชนีบอกความต้องการฟอสฟอรัสในปลาได้ (Lewis-McCrea and Santosh, 2007) กล่าวว่าฟอสฟอรัสมีหน้าที่สำคัญในการสร้างโครงสร้างแข็งในร่างกายโดยปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหารส่งผลโดยตรงต่อการสะสมฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Ye และคณะ 2006 พบว่าปลาแก่ระยะวัยรุ่นที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมฟอสฟอรัสมิ้องค์ประกอบของเถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมในกระดูกของตัวปลามีค่าต่ำกว่าในระดับอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sakamoto และ Yone

(1978); Chavez-Sanchez และคณะ (2000) พบว่าการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสและแคลเซียมนั้นเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการสร้างกระดูกของปลา

การศึกษาปริมาณการสะสมของฟอสฟอรัสในปลาถือว่ามีความสำคัญสำหรับการประเมินคุณภาพอาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะจากหลายๆ การทดลองได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงแบบยั่งยืน เน้นการศึกษาการนำฟอสฟอรัสและไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ได้เป็นหลัก เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่ขาดมีการสะสมของฟอสฟอรัสภายในตัวสูง ส่วนปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับพอดีมีการสะสมในระดับรองลงมา และปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เกินความต้องการมีการสะสมของฟอสฟอรัสน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Frenzel และ Pfeffer (1982) กล่าวว่าฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาส่งผลมาจากการเสริมฟอสฟอรัสในอาหาร เช่นเดียวกับ Andrews และคณะ (1973) สังเกตจากหลายๆ การศึกษาพบว่าปลาได้รับฟอสฟอรัสและแคลเซียมจากน้ำ และอาหารเป็นหลัก ซึ่งฟอสฟอรัสและแคลเซียมสามารถดูดซึมและขับออกจากร่างกายทางเหงือกโดยปลาสามารถแลกเปลี่ยนแร่ธาตุกับสิ่งแวดล้อมและมีกลไกควบคุมสัดส่วนระหว่างฟอสฟอรัสและแคลเซียมต่อความสมดุลของแร่ธาตุจากการดูดซึมและการขับแร่ธาตุออกจากร่างกาย

จากการทดลองปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกายนั้นพบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.3$) มีการสะสมของฟอสฟอรัสภายในตัวสูง ส่วนปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.7$) มีการสะสมในตัวรองลงมา และปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ ($AvP = 0.9$) มีการสะสมในตัวน้อยที่สุด สำหรับการศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายทั้งหมด Bureau และ Cho (1999: 2001) กล่าวว่าเมื่อปลาได้รับอาหารที่เสริมฟอสฟอรัสในอาหารน้อยหรือไม่เสริมฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบในอาหารเลยนั้นพบว่ามีการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ในปริมาณน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าปลาสามารถนำฟอสฟอรัสที่สามารถย่อยได้นำไปใช้เพื่อการสะสมทั้งหมด อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระดับของฟอสฟอรัสที่ย่อยได้ในอาหารส่งผลให้มีการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกับการศึกษาของ Rodehutsord (1996) กล่าวว่าปริมาณการสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายหรือการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อปริมาณของฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้มีการขับออกมาในปริมาณมากซึ่งปกติแล้วพบว่ามีการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ขึ้นอยู่กับปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้นั้นจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อปริมาณของฟอสฟอรัสที่สามารถย่อยได้มีระดับมากอย่างเพียงพอสำหรับการนำฟอสฟอรัสไปใช้เพื่อการสะสม

หรือมีการดูดซึมในลำไส้ รวมทั้งกลไกการดูดกลับของไตจึงทำให้ปลาต้องขับฟอสฟอรัสส่วนเกิน ซึ่งอยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้ออกมานั้นเอง จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับต่ำ ระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ และระดับที่เกินกว่าความต้องการมีการขับฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้แตกต่างกันไปตามระดับของฟอสฟอรัสที่เสริมลงไป ในอาหารซึ่งมีค่าการขับฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Avila และคณะ (2000); Coloso และคณะ (2001a; 2001b) ได้กล่าวว่าฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำเพิ่มอย่างต่อเนื่องเมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีระดับที่มากเกินกว่าความต้องการของปลาโดยทั่วไปเป็นอวัยวะควบคุมกลไกฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ ซึ่งทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของแร่ธาตุภายในร่างกาย

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศทั้ง 9 สูตรการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. อาหารที่เสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.7 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3, 0.6 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ เช่น มีน้ำหนักเฉลี่ยของปลา (สัปดาห์ที่ 8) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง
2. สำหรับเปอร์เซ็นต์ของสัมประสิทธิ์การย่อยสลายอาหาร (วัตถุแห้ง และฟอสฟอรัส) เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่การได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.7 เปอร์เซ็นต์
3. การเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณเถ้าและการสะสมของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในตัวปลา เกล็ดปลาเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับไขมันในตัว และไขมันในตับปลามีค่าลดลงเมื่อได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดลองจะลดลงเมื่อได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ตั้งแต่ 0.7 เปอร์เซ็นต์
4. จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าการเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปส่งผลให้มีฟอสฟอรัสที่จับที่ ฟอสฟอรัสที่จับที่ทั้งหมดเพิ่มขึ้น

ข้อเสนอแนะในระหว่างการทดลอง

1. การวางแผนการทดลองถือว่ามีความสำคัญต่อการวิจัย ดังนั้นการวางแผนที่ครอบคลุมถึงระดับฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ไม่เพียงพอ พอดี และมากเกินไปความต้องการ ซึ่งส่งผลให้ทราบถึงระดับที่ต้องการอย่างแท้จริง
2. ควรมีการศึกษาความเป็นปฏิกิริยาของฟอสฟอรัสและแคลเซียมกับสารอาหารชนิดอื่น เช่น กลุ่มของวิตามิน เช่น วิตามินดี

เอกสารอ้างอิง

- คีรี กอนันตกุล. 2543. การเพาะเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ. ว. สัตว์น้ำฉบับพิเศษ 11: 175-179.
- บันลือ ชีวะอิสระกุล และสุชน ตั้งทวีพัฒน์. 2540. ไฟเตทสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ของ ฟอสฟอรัสในสัตว์. ว. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 7: 23-30.
- ปกรณ อุ่นประเสริฐ. 2527. ปลานิลแดง. ว. การประมง 37: 229-234.
- พรรณศรี จริโมภาส. 2531. ปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทย. ว. การประมง 41: 41- 43.
- เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดียว. 2543. สถานะการเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย. ว. เกษตร 28:173-181.
- มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และวิมล จันทรโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23 สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์. 2541. การเลี้ยงปลานิลในกระชังที่ จ. ขอนแก่น. ว. การประมง 51: 167-177.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ชลบุรี: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง และอัจฉริยา มุสโกภาส. 2548. ผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ. ว.สงขลานครินทร์ วทท. 27: 151-170.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง, อัจฉริยา มุสโกภาส และคุสิต นาคะชาติ. 2548. ผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลาดุกพันธุ์ผสม. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 27: 171-185.
- สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. 2526. ปลานิลแดง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 17/2526. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สันทนา ดวงสวัสดิ์ และทักษิณี ภูพิพัฒน์. 2525. ชีวิตประวัติโดยสรุปของปลาที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Abdolsamad, K., Amirkolaie, J.A.J. and Verreth, J.W.S. 2006. Effect of gelatinization degree and inclusion level of dietary starch on the characteristics of digesta and faeces in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 260: 194-205.

- Adeola, O. and Sands, J.S. 2003. Dose supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization a perspective that it does not. *J. Anim. Sci.* 81: 78-85.
- Ali, A. and Al-Asgah, N.A. 2001. Effect of feeding different of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Anim. Res.* 50: 91-100.
- Amirkolaie, A.K., Leenhouders, J.I., Verreth, J.A.J. and Schrama, J.W. 2005. Type of dietary fibre (soluble versus insoluble) influences digestion, faeces characteristics and faecal waste production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) *Aquac. Res.* 36: 1157-1166.
- Andrews, J.W., Murai, T. and Campbell, C. 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.* 103: 766-771.
- Anwar, M.F. and Jafri, A.K. 1995. Effect of varying dietary lipid levels on growth, feed conversion, nutrient retention and carcass composition of fingerling catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Asian Fish. Sci.* 8: 55-62.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis 15th Edition. Washington, D.C: The Association of Official Analytical Chemists.
- Availa, 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.
- Availa, A.M., Basantes, H.T. and Ferraris, R.P. 2000. Dietary phosphorus regulates intestinal transport and plasma concentrations of phosphate in rainbow trout. *J. Comp. Physiol.* 170: 201-209.
- Aydin, R., Sen, D., Calta, M. and Canpolat, Ö. 2008. The amount of calcium in bony structures used for age determination in *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843). *Aquac. Res.* 39: 596-602.
- Bahurmiz, O.M. and Ng, W.K. 2007. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.), raised from stocking to marketable size. *Aquaculture* 262: 382-392.
- Berg, A. 1968. Studies on the metabolism of calcium and strontium in freshwater fish. I. Relative contribution of direct and intestinal absorption. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Dott. Maroco de Marchi.* 23: 161-196.

- Borlongan, I.G. and Satoh, S. 2001. Dietary phosphorus requirement of juvenile milkfish (*Chanos chanos* (Forsskal)). *Aquac. Res.* 32: 26-32.
- 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.
- Boyd, R.D., Hall, D. and Wu, J.E. 1983. Plasma alkaline phosphatase as a criterion for determining biological availability of phosphorus for swine. *J. Anim. Morphol. Physiol.* 57: 396-401.
- Brauge, C., Medale, F. and Corraze, G. 1994. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout. *Aquaculture* 123: 109-120.
- 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.
- Cashman, K.D. and Flynn, A. 1999. Optimal nutrition: calcium, magnesium and phosphorus. *Proc. Nutr. Soc.* 58: 477-487.
- Chavez-Sanchez, C., Martinez-Palacios, C.A., Martinez-Perez, G. and Ross, L.G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus* (Günther)). *Aquaculture* 6: 1-9.
- Cheng, Z.J. and Hardy, R.W. 2003. Effect of extrusion and expelling processing and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 218: 501-514.
- Cho, C.Y. and Bureau, D.P. 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquac. Res.* 32: 349-360.
- Chung, T.K. 2002. How to get the best out of phytase. *Feed Mix.* 10: 27-29.
- Ciofalo, V., Barton, N., Kretz, K., Baird, J., Cook, M. and Shanahan, D. 2003. Safety evaluation of a phytase, expressed in *Schizosaccharomyces pombe*, intended for use in animal feed. *Aquaculture* 218: 286-292.
- Coloso, R.M., Basantes, S.P., King, K., Hendrix, M.A., Fletcher, J.W., Weis, P. and Ferraris, R.P. 2001a. Effect of dietary Phosphorus and vitamin D₃ on phosphorus levels in effluent from the experimental culture of rainbow trout. *Aquaculture* 202: 145-161.
- Coloso, R.M., Basantes, S.P., Werner, A. and Ferraris, R.P. 2001b. Effect of dietary phosphorus on sodium phosphate cotransporter expression in trout intestine and kidney. *FASEB.J.* 15: 841.

- Davis, D.A. and Gatlin, D. 1991. Dietary mineral requirements of fish and shrimp. *In: Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*. Akiyama, D.M. and Tan, R.K.H. (Eds.). Singapore.
- Davis, D.A. and Robinson, E.H. 1987. Dietary phosphorus requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *J. World Aquacult. Soc.* 18: 129-136.
- Duncan, A.E. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics* 11: 1-42.
- Dupree, H.K. and Sneed, 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.
- Ellestad, L.E., Dahl, G., Angel, R. and Soares Jr, J.H. 2003. The effect of exogenously administered recombinant bovine somatotropin on intestinal phytase activity and *in vivo* phytate hydrolysis in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquac. Nutr.* 9: 327-336.
- El-Sayed, A.F.M. and Kawanna, M. 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture* 280: 179-184.
- El-Zibdeh, M., Ide, K., Yoshimatsu, T., Matsui, S. and Furuichi, M. 1995. Requirement of Yellow croaker (*Nibea albiflora*) for dietary phosphorus. *Fac. Agr. Kyushu Univ.* 40: 147-155.
- Eya, J.C. and Lovell, R.T. 1997a. Available phosphorus requirements of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds. *Aquaculture* 154: 283-291.
- Eya, J.C. and Lovell, R.T. 1997b. Net absorption of dietary phosphorus from various inorganic sources and effect of fungal phytase on net absorption of plant phosphorus by channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. World Aquacult. Soc.* 28: 386-391.
- 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 effect in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- Frenzel, E. and Pfeffer, E. 1982. Untersuchungen über den Mineral-stoffbedarf von Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*, R.). *Arch. Tierern.* 32: 1-8.

- Furuichi, M. and Yone, Y. 1980. Effect of dietary dextrin levels on the growth and feed efficiency, the chemical composition of liver and dorsal muscle and the absorption of dietary protein and dextrin in fishes. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46: 225-229.
- Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 32: 502-506.
- Gatlin, D. and Phillips, H.F. 1989. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. *Aquaculture* 79: 259-266.
- Halver, J.E. and Hardy, R.W. 2002. Fish Nutrition. *In: School of Aquatic and Fisheries Science.* University of Washington. Washington D.C. Academic Press.
- Hardy, R.W. and Gatlin, D. 2002. Nutritional strategies to reduce nutrient losses in intensive aquaculture. *In: Avances en Nutricion Acuicola VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola.* Cancun, Quinta Ro, Mexico, 3rd- 6th September 2002.
- Haylor, G.S., Beveridge, M.C.M. and Jauncey, J.K. 1988. Phosphorus nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus*. *In: The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture.* ICLARM Conference Proceedings 15: 623 pp. Department of Fisheries. Bangkok and ICLARM, Manila.
- Henry, Y., Gueguen, L. and Rcrat, A. 1979. Influence of the dietary phosphorus on the voluntary intake of energy and metabolic utilization of nutrients in the growing rat. *Br. J. Nutr.* 42: 127-137.
- Hernandez, A., Satoh, S. and Kiron, V. 2005. Effect of monocalcium phosphate supplementation in a low fish meal diet for rainbow trout based on growth, feed utilization, and total phosphorus loading. *Fish. Sci.* 71: 817-822.
- Hossain, M.A. and Furuichi, M. 1999. Necessity of dietary calcium supplement in black sea bream. *Fish. Sci.* 65: 893-897.
- Hossain, M.A. and Furuichi, M. 2000a. Essentiality of dietary calcium supplement in redlip mullet (*Liza haematocheila*). *Aquac. Nutr.* 6: 33-38.
- Hossain, M.A. and Furuichi, M. 2000b. Necessity of dietary calcium supplement to the diet of Japanese flounder. *Fish. Sci.* 66: 660-664.

- Hossain, M.A. and Furuichi, M. 2000c. Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*). *Aquaculture* 189: 155-163.
- Hua, K., F M de Lange, C., Niimi, A.J., Cole, Gordon., Moccia, R.D, Fan, M.Z. and Bureau, D.P. 2008. A factorial model to predict phosphorus waste output of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Res.* 39: 1059-1068.
- 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* × *C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. *Aquaculture* 127: 61-68.
- Jauncey, K.J. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture* 27: 43-54.
- Jiménez-Montealegre, R., Verdegem, M., Zamora, J.E. and Verreth, J. 2002. Organic matter sedimentation and resuspension in tilapia (*Oreochromis niloticus*) ponds during a production cycle. *Aquac. Eng.* 26: 1-12.
- Jobling, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. New York: Chapman and Hall.
- Johnston, C.E., Homey, B.S., Deluca, S., MacKenzie, A., Eales, J.G. and Angus, R. 1994. Changes in alkaline phosphatase isozyme activity in tissues and plasma of Atlantic salmon (*Salmo salar*) before and during smoltification and gonadal maturation. *Fish Physiol. Biochem.* 12: 485-497.
- Kenan, K. and Yasar, O. 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 250: 308-316.
- Keshavanath, P., Manjappa, K. and Gangadhara, B. 2002. Evaluation of carbohydrate rich diets through common carp culture in manured tanks. *Aquac. Nutr.* 8: 169-174.
- Ketaren, P.P., Batterham, E.S., White, E., Farrell, D.J. and Milthorpe, B.K. 1993. Phosphorus studies in pigs: 1. Available phosphorus requirements of grower/finisher pigs. *Br. J. Nutr.* 70: 249-268.
- Ketola, H.G. 1975. Requirement of Atlantic salmon for dietary phosphorus. *Trans. Am. Fish. Soc.* 104: 548-551.

- Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. *In: Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. In: Proceeding of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. University of Guelph, Canada, pp. 21-36.*
- Lall, S.P. 2002. The Minerals. *In: Fish Nutrition, 3rd Edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). California: Academic Press.*
- Lee, D.B.N., Walling, M.W. and Brautbar, N. 1986. Intestinal phosphate absorption: Influence of vitamin D and non-vitamin D factors. *Am. J. Physiol.* 250: 369-373.
- Lewis-McCrea, L.M. and Lall, S.P. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish—An overview. *Aquaculture* 267: 3-19.
- Liang, J., Han, B-Z., Nout, M.J.R. and Hamer, R. 2008. Effects of soaking, germination and fermentation on phytic acid, Total and *in vitro* soluble zinc in brown rice. *Food Chem.* 110: 821-828.
- Liebert, F. and Portz, L. 2007. Different sources of microbial phytase in plant based low phosphorus diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* may provide different effects on phytate degradation. *Aquaculture* 267: 292-299.
- Liebert, F., Sünder, A. and Mohamed, K. 2006. Assessment of nitrogen maintenance requirement and protein deposition in juvenile tilapia genotypes by application of an exponential nitrogen utilization model. *Aquaculture* 261: 1346-1355.
- Lin, Y.H., Lin, S.H. and Shiau, S.Y. 2008. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture* 284: 207-210.
- Lovell, R.T. 1988. *Nutritional and Feeding of Fish.* New York: Van Nostrand Reinhold.
- Mai, K.S., Zhang, C.X., Ai, Q.Y., Xu, W., Zhang, L., Liufu, Z.G. and Tan, B. P. 2006. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 251: 346-353.
- Mega, J.A. 1982. Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance and method of analysis. *J. Agric. Food Chem.* 30: 1-9.
- Mohammed, A., Gibney, M.J. and Taylor, T.G. 1991. The effects of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytase-P by the chick. *Br. J. Nutr.* 66: 251-259.

- Morris, E.R. 1986. Phytate and dietary mineral biodiversity. *In: Phytic Acid: Chemistry and Applications*. E. Graf (Ed.). Minneapolis: Pilatus Press.
- Moyle, P.B. and Cech Jr., J.J. 1982. *Fishes: An Introduction to Ichthyology*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.
- Nakamura, Y. 1982. Effects of dietary phosphorus and calcium contents on the absorption of phosphorus in the digestive tract of carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 48: 409-413.
- Nankervis, L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 191: 323-335.
- Nelson, T.S. and Walker, A.C. 1964. The biological evaluation of phosphorus compounds. A summary. *Poultry Sci.* 43: 94-98.
- Neves, R.C.F., Moraes, P.M., Saleh, M.A.D., Loureiro, V.R., Silva, F.A., Barros, M.M., Padilha, C.C.F., Jorge, S.M.A. and Padilha, P.M. 2009. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chem.* 113: 679-683.
- Ng, W.K. and Bahurmiz, O.M. 2009. The impact of dietary oil source and frozen storage on the physical, chemical and sensorial quality of fillets from market-size red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). *Food Chem.* 113: 1041-1048.
- NRC (National Research Council). 1983. *Nutrient Requirement of Warmwater Fishes and Shellfishes*. Washington D.C: National Academy Press.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirement of Fish*. Washington D.C: National Academy Press.
- Norman, A.W. 1990. Vitamin D: metabolism and mechanism of action. *In: Favus, M.J. (Ed.). Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Raven Press.
- O'Connell, J.P. and Gatlin, D. 1994. Effects of dietary calcium and vitamin D₃ on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water. *Aquaculture* 125: 107-117.
- Ogino, C. and Takeda, H. 1976. Mineral requirements in fish III, calcium and phosphorus requirements in carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 42: 793-799.

- Onishi, T., Suzuki, M. and Takeuchi, M. 1981. Change in carp hepatopancreatic enzyme activities with dietary phosphorus levels. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47: 353-357.
- Pan, Q., Liu, S., Tan, Y.G. and Bi, Y.Z. 2003. The effect of chromium picolinate on growth and carbohydrate utilization in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture* 225: 421-429.
- Paul, B.N., Sarker, S., Giri, S.S., Rangacharyulu, P.V. and Mohanty, S.N. 2004. Phosphorus requirements and optimum calcium and phosphorus ratio in the diet of mrigal (*Cirrhinus mrigala* (Ham.)) fingerlings. *Aquac. Res.* 20: 306-309.
- Peragon, J., Barroso, J.B., Garcia-Salguero, L., De la., H. And Lupianez, J.A. 1999. Carbohydrates affect protein-turnover rates, growth, and nucleic acid content in the white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 179: 425-437.
- Phromkunthong, W. and Udom, U. 2008. Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plant diets. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30: 7-16.
- Rehulka, J. and Minarik, B. 2008. Total calcium and inorganic phosphate in the blood plasma of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Res.* 39: 1161-1168.
- Rhoades, R. and Pflanzler, R.G. 1996. *Human Physiology*, 3rd Edition. Saunders College Pub., Fort Worth.
- Robinson, E.H., Labomascus, D., Brown, P.B. and Lanton, T.L. 1987. Dietary calcium and phosphorus requirement of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. *Aquaculture* 64: 267-276.
- Robinson, E.H., Rawles, S.D., Brown, P.B., Yette, H.E. and Greene, L.W. 1986. Dietary calcium requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) reared in calcium-free water. *Aquaculture* 53: 263-270.
- Robinson, E.H., Rawles, S.D., Yette, H.E. and Greene, L.W. 1984. An estimate of the dietary calcium requirement of fingerling *Tilapia aureus* reared in calcium-free water. *Aquaculture* 41: 389-393.
- Rodehutsord, M. 1996. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200 g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diet. *J. Nutr.* 126: 324-331.

- Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture* 221: 451-468.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. 1973. Effect of Dietary calcium and phosphorus ration upon growth feed efficiency and blood serum Ca and P level in red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 39: 343-348.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. 1976. Requirement of red sea bream for dietary calcium. *Res. Dev. Ser. Inst. Cent. Aquacult.* 3: 59-64.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. 1978. Effect of dietary phosphorus level on chemical composition of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44: 227-229.
- Sargent, J., Tocher, D.R. and Bell, J.G. 2002. The lipids. *In: Fish Nutrition*. 3rd Edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). California: Academic Press.
- Satoh, S., Takenazawa, M., Akimoto, A., Kiron, V. and Watanabe, T. 2002. Changes of phosphorus absorption from several feed ingredients in rainbow trout during growing stages and effect of extrusion of soybean. *Fish. Sci.* 68: 325-331.
- Sauer, D.M. and Haider, G. 1979. Enzyme activities in the plasma of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Richardson, the effects of nutritional status and salinity. *J. Fish Biol.* 14: 407-412.
- 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.
- Shiau, S.Y. and Peng, C.Y. 1993. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture* 117: 327-334.
- Shiau, S.Y. 2002. Tilapia, *Oreochromis* spp. *In: Webster, C.D. and Lim, C. (Eds.). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CABI Publishing, New York. pp. 273-292.
- Shiau, S.Y. and Tseng, H.C. 2007. Dietary calcium requirements of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) reared in fresh water. *Aquac. Nutr.* 13: 298-303.
- Shitanda, K., Azuma, R. and Ukita, M. 1979. Effect of phosphorus supplement to commercial diet on growth, feed efficiency, chemical component of serum and body with carp. *Suisanzoshoku.* 27: 26-32.

- 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.
- Srivastav, A.K. Srivastav, S.K., Sasayama, Y., Suzuki, N. and Norman, A.W. 1997. Vitamin D metabolites affect serum calcium and phosphate in freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Zool. Sci.* 14: 743-746.
- Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 161: 365-379.
- 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)). *Aquac. Res.* 31: 585-593.
- Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M. and Hardy, R.W. 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) fed soybean meal-based diets. *Aquac. Res.* 32: 583-592.
- 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.
- Swarup, K., Das, V.K. and Norman, A.W. 1989. Dose-dependent vitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced hypercalcemia in male cyprinoid (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.* 100: 445-447.
- Tacon, A.G.J. 1990. *Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Volume 1. The Essential Nutrients.* Argent Laboratories: Washington.
- Tacon, A.G.J. and Forster, I.P. 2003. *Aquafeeds and the environment: policy implications.* *Aquaculture* 226: 181-189.
- Takeuchi, M. and Nakazoe, J. 1981. Effect of dietary phosphorus on lipid content and its composition in carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47: 347-352.
- Tran-Duy, A., Smit, B.A., Van Dam, A.W. and Schrama, J. 2008. Effect of dietary starch and energy levels on maximum feed intake, growth and metabolism of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 277: 213-219.

- Tudkaew, J., Gabaudan, J. and Phromkunthong, W. 2008. The supplementation of phytase RONOZYME[®] P on the growth and the utilization of phosphorus by sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 17-24.
- Uyan, O., Koshio, S., Ishikawa, M., Uyan, S., Ren, T., Yokoyama, S., Komilus, C.F. and Michael, F.R. 2007. Effects of dietary phosphorus and phospholipids level on growth, and phosphorus deficiency signs in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 267: 44-54.
- Vielma, J., Koskela, 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. and Lall, S.P. 1988. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160: 117-128.
- Vielma, J., Ruohonen, K. and Peisker, M. 2002. Dephosphorylation of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 204: 145-156.
- Viñuela, J., Ferrer, M. and Recio, F. 1991. Age-related variations in plasma levels of alkaline phosphatase, Calcium and inorganic phosphorus in chick of two species of raptors. Comp. Biochem. Physiol. 99: 49-54.
- Watanabe, T., Murakami, A., Takeuchi, L., Nose, T. and Ogino, C. 1980a. Requirement of chum salmon held in freshwater for dietary phosphorus. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 361-367.
- Watanabe, T., Satoh, S. and Takeuchi, T. 1988. Availability of minerals in fish meal to fish. Asian Fisheries Science 1: 175-195.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. and Ogino, C. 1980b. The availability to *Tilapia niloticus* of phosphorus in white fish meal. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 897-899.
- Wilson, R.P. 1989. Amino acids and protein *In*: J.E. Halver (Ed.) Fish Nutrition. 2nd Edition. California. Academic Press.
- Wilson, R.P. 2002. Amino acids and protein. *In*: J.E. Halver and R.W. Hardy (Eds.) Fish Nutrition. 3rd Edition. California. Academic Press.
- Wilson, R.P., Robinson, E.H., Gatlin, D. 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.
- Ye, C.X., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Du, Z.Y., Yang, H.J. and Niu, J. 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*). *Aquaculture* 255: 263-271.
- Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on nutrition of red sea bream-XI: Effect of omega 3 fatty acid supplement in corn oil diet on growth rate and feed efficiency. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 41: 73-77.
- Yong-Sulem, S., Tchanchou, L., Nguefack, F. and Brummett, R.E. 2006. Advanced nursing of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings in earthen ponds, through recycling of tilapia recruits. *Aquaculture* 256: 212-215
- Zeitoun, I.H., Tack, P.I., Halver, J.E. and Ullrey, D.E. 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri* fingerling). *J. Fish Res. Board Can.* 30: 1867-1873.
- Zhang, C.X., Mai, K.S., Ai, Q.H., Zhang, W.B., Duan, Q.Y., Tan, B.P., Ma, H.M., Xu, W., Liufu, Z.G. and Wang, X.J. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax Japonicus*). *Aquaculture* 255: 201-209.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร ตัวยุโรปและเนื้อปลาทดลอง (ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC, 1990)

1.1 การวิเคราะห์ความชื้น

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งโดยละเอียด

3. ชั่งตัวอย่างใส่ถ้วยอบความชื้นประมาณ 3 กรัม และบันทึกน้ำหนัก

4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วบันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง

6. ทำซ้ำตามข้อ 4 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไป คือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณหาความชื้นด้วยสมการ

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(a - b) \times 100}{W}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

b = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

3. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบเข้าโถดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างเย็นดีแล้วนำออกมาชั่งทันทีด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

คำนวณหาถ้ำด้วยสมการ

$$\text{ถ้ำ (\%)} = \frac{(b - a) \times 100}{W}$$

เมื่อ $a =$ น้ำหนักของถ้ำยกระเบื้องเคลือบ

$b =$ น้ำหนักของถ้ำยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของตัวอย่างหลังการเผา

$w =$ น้ำหนักของตัวอย่างก่อนเผา

1.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid, H_2SO_4) เข้มข้น 93 – 98 %
2. สารเร่งรวม (catalyst mixture): เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate, $CuSO_4$) 7 กรัม และโพแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate, K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45% (sodium hydroxide, NaOH): เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ชนิดเกล็ด 450 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
4. สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดยสารละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้เป็น 1 ลิตร
5. กรดบอริก (boric acid, H_2BO_3) 4%: เตรียมโดยต้อน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแล้วใส่กรดบอริกลงไป 4 กรัม คนจนละลายหมด เมื่อสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator): เตรียมโดยละลายเมทิลเรด (methyl red) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วนผสมเข้ากับสารละลายเมทิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน
7. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator): เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
8. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260–270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารที่อบแล้ว 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

การคำนวณหาโปรตีนด้วยสมการ

$$\text{โปรตีน (\%)} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

- เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง
 V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ
 N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล
 W = น้ำหนักตัวอย่าง

1.4 การวิเคราะห์ไขมัน (ใช้เครื่อง Soxtec System HT6)

สารเคมี

1. Trichloroetherline

วิธีการ

1. อบอุ่นพร้อมลูกแก้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. อบอุ่นตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
3. ชั่งน้ำหนักด้วยพร้อมลูกแก้ว (w_1)
4. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 ประมาณ 1–2 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง
5. นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้เติม Trichloroetherline ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่อง
6. เปิดเครื่องปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดเครื่องทำความเย็น เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที
7. จากนั้นเลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที
8. ปิดวาล์ว เปิดสวิทช์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหย 5 นาที
9. ปิดสวิทช์อากาศ และเครื่องทำความเย็น เลื่อนปุ่ม evaporation กลับตำแหน่งเดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง อบที่ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
10. นำถ้วยออกมาใส่โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (w_3)

คำนวณหาไขมันด้วยสมการ

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{W_3 - W_1}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลั่งอบ

1.5 การวิเคราะห์โครมิกออกไซด์ (ตามวิธีการของ Furukawa and Tsukahara, 1966)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น 70%
2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 70%

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 0.5-1 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5-8 มิลลิลิตร นำไปย่อยที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 190 องศาเซลเซียส จนหมดควันสีน้ำตาล หรือสารละลายใส และมีตะกอนสีเขียว หากสารละลายยังไม่ใสหรือมีสีเขียวให้เติมกรดไนตริกเพิ่มแล้วย่อยต่อ
3. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร นำไปย่อยอีกครั้ง จนสารละลายในขวดเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง ย่อยต่ออีกจนหมดควันสีขาว เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจะเห็นคราบสีแดงภายในขวด
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสารละลายให้ครบ 25 มิลลิลิตร
5. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

ก. คำนวณค่าปริมาณโครมิกออกไซด์โดยใช้สมการ (Furukawa and Tsukahara, 1966 อ้างโดย FAO, 1994)

คำนวณปริมาณโครมิกออกไซด์ด้วยสมการ

$$x = (1/4) [(Y-0.0032)/0.2089]$$

เมื่อ Y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ปริมาณโครมิกออกไซด์ (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)

0.0032 และ 0.2089 เป็นค่าคงตัว

ข. คำนวณปริมาณโครมิกออกไซด์ในตัวอย่าง

ปริมาณโครมิกออกไซด์ในตัวอย่าง = $100 \times (\text{ปริมาณโครมิกออกไซด์ในจากข้อ ก.} / \text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์(มิลลิกรัม)})$

1.6 การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส

สารเคมี

1. กรดสำหรับย่อยตัวอย่าง เตรียมโดย

ซังแอมโมเนียมเมตาวานาเดท (ammonium metavanadate, NH_4VO_3) 0.06 กรัม ละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water) ซึ่งเดือดประมาณ 10 มิลลิลิตร วางทิ้งในตู้เย็นแล้วจึงเทลงในส่วนของผสมของกรดสองชนิดคือ กรดเปอร์คลอริก (perchloric, HClO_4) เข้มข้น (70-72%) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (nitric acid, HNO_3) เข้มข้น (65%) ปริมาตร 1,250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2. สารละลายวานาโดโมลิบเดท (vanadomolybdate) เตรียมโดย

2.1 นำแอมโมเนียมโมลิบเดท (ammonium molybdate): 40 กรัม ละลายในน้ำเดือดที่ปราศจากไอออนมีปริมาตร 400 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ให้เย็น

2.2 แอมโมเนียมเมตาวานาเดท: 2 กรัม ละลายในน้ำเดือดที่ปราศจากไอออนซึ่งมีปริมาตร 300 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดไนตริกเข้มข้น 160 มิลลิลิตร

2.3 ผสมสารละลายในข้อ 2.2 ลงในสารละลายในข้อ 2.1 ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อนำไปใช้เจือจางสารละลายข้างต้นด้วยน้ำปราศจากไอออนในอัตราส่วน (วานาโดโมลิบเดท : น้ำ) 1:3

3. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (standard phosphorus) 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร : เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณ 4.380 กรัม ในน้ำที่ปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. เวิร์กกิง สแตนดาร์ด ฟอสฟอรัส (working standard phosphorus) ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรเตรียมโดยนำสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากข้อที่ 3) ปริมาตร 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 20% โดยการเตรียมสารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (70-72%) ปริมาตร 282 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงปริมาณ 200-300 มิลลิกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมกรดย่อย (จากข้อที่ 1 ในหัวข้อสารเคมีปริมาตร 15 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง)

3. นำไปย่อยบนแผ่นให้ความร้อนค่อยๆ ปรับความร้อนให้ได้ 80 องศาเซลเซียส ระยะแรกเป็นควันสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาของกรดไนตริกกับอนินทรีย์คาร์บอน เมื่อควันสีน้ำตาลหมดปรับอุณหภูมิเป็น 190 องศาเซลเซียส จะสังเกตควันสีขาวของกรดเปอร์คลอริกการย่อยจะสิ้นสุดเมื่อสารละลายในขวดชมพู่ใส และเมื่อวางไว้ให้เย็นแล้วหยดน้ำที่ปราศจากไอออนลงในสารละลายในขวดชมพู่จะได้สารละลายสีใส

4. ปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. เก็บสารละลายที่ผ่านการย่อยแล้วไว้ในขวดพลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตรเพื่อรอนำไปวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและแคลเซียม

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว และเวิร์กกิ้งแอสแตนด์คาร์ดฟอสฟอรัสความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดขนาด 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายวานาโดโมลิบเดท (1:3) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 20 นาที

3. นำสารละลายในหลอดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรโดยปรับค่าความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เท่ากับค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานโดยใช้สมการ

$$y = 0.0092x - 0.021$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

นำค่าปริมาณฟอสฟอรัสจากสมการมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสตามสูตร

$$\% \text{ ฟอสฟอรัส} = (X-B) \times V \times 100/1000 \times W$$

เมื่อ X = ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรของตัวอย่างที่ปรับปริมาตรหลังจากการย่อย (มิลลิกรัม)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

1. ตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างสามารถตรวจสอบได้โดยการนำตัวอย่างที่ทราบปริมาณฟอสฟอรัสที่แน่นอน ทำการย่อยและวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสพร้อมกับชุดตัวอย่างที่ต้องการทราบค่า หากตัวอย่างที่ทราบปริมาณฟอสฟอรัสที่แน่นอนไม่ได้ตามที่กำหนดไว้ จะต้องทำการย่อยและวิเคราะห์ใหม่จนกว่าตัวอย่างที่ทราบปริมาณฟอสฟอรัสที่แน่นอน

2. สำหรับสารละลายตัวอย่างที่ค่าการดูดกลืนแสงไม่อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐานให้ทำการเจือจางสารละลายตัวอย่าง จนกว่าจะได้ค่าการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน (เช่น ตัวปลา และกระดูกปลา ทำการเจือจางเป็น 4 เท่า) และต้องคูณจำนวนเท่าของการเจือจางในสูตรการคำนวณข้างต้น

1.6 การวิเคราะห์หาแคลเซียม

นำสารละลายตัวอย่างเดียวกับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสส่งวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมที่เจือจางแล้วมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Atomic (Intively Couple Plasma Optical Emission Spectrometer; ICP-OES) ที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์แคลเซียมตามสูตร

$$\% \text{ แคลเซียม} = X \times V \times 100/1000 \times W$$

เมื่อ X = ปริมาณแคลเซียมที่อ่านได้ในตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรของตัวอย่างที่ปรับปริมาตรหลังจากการย่อย (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

กรณีที่มีการเจือจางตัวอย่างเนื่องจากความเข้มข้นของแคลเซียม ในสารละลายตัวอย่างสูงกว่าช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ต้องคูณจำนวนเท่าของการเจือจางในสูตรการคำนวณข้างต้น

ภาคผนวก ข

ตารางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ข. 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดลอง

1.1 ความแปรปรวนของน้ำหนักสุดท้ายของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	238521.374 ^a	8	29815.172	2.663	.040
Intercept	57944148.867	1	57944148.9	5174.590	.000
Phosphorus	85726.781	2	42863.390	3.828	.041
Calcium	52383.763	2	26191.881	2.339	.125
Phosphorus *Calcium	100410.831	4	25102.708	2.242	.105
Error	201560.823	18	11197.824		
Total	58384231.064	27			
Corrected Total	440082.198	26			

R Squared = .542 (Adjusted R Squared = .338)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	1414.598	
.90	9	1436.638	
.70	9		1543.616
Sig.		.664	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.90	9	1405.996	
.30	9	1477.008	
.60	9	1511.848	
Sig.		.058	

1.2 ความแปรปรวนของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	42548.765 ^a	8	5318.596	2.730	.037
Intercept	7010173.871	1	7010173.871	3597.812	.000
Phosphorus	15375.455	2	7687.727	3.946	.038
Calcium	9447.578	2	4723.789	2.424	.117
Phosphorus *Calcium	17725.732	4	4431.433	2.274	.101
Error	35072.185	18	1948.455		
Total	7087794.820	27			
Corrected Total	77620.950	26			

R Squared = .548 (Adjusted R Squared = .374)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	488.2416	
.90	9	497.5267	
.70	9		542.8642
Sig.		.661	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.90	9	484.6233	
.30	9	514.3164	
.60	9	529.6935	
Sig.		.054	

1.3 ความแปรปรวนของอัตราการใช้ธาตุฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.397 ^a	8	.050	2.740	.036
Intercept	280.027	1	280.027	15461.07	.000
Phosphorus	.138	2	.069	3.799	.042
Calcium	.092	2	.046	2.549	.106
Phosphorus *Calcium	.167	4	.042	2.307	.098
Error	.326	18	.018		
Total	280.750	27			
Corrected Total	.723	26			

R Squared = .549 (Adjusted R Squared = .349)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	3.1607	
.90	9	3.1798	
.70	9		3.3208
Sig.		.767	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	9	3.1420
.30	9	3.2372
.60	9	3.2822
Sig.		.096

1.4 ความแปรปรวนของอัตราการกินอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.626 ^a	8	.078	1.749	.155
Intercept	255.722	1	255.722	5719.979	.000
Phosphorus	.213	2	.107	2.384	.121
Calcium	.139	2	.069	1.553	.239
Phosphorus *Calcium	.274	4	.068	1.530	.236
Error	.805	18	.045		
Total	257.152	27			
Corrected Total	1.430	26			

R Squared = .437 (Adjusted R Squared = .187)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.70	9	2.9519
.30	9	3.1372
.90	9	3.0700
Sig.		.084

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.60	9	3.0064
.30	9	3.0505
.90	9	3.1033
Sig.		.124

1.5 ความแปรปรวนของอัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	151.852 ^a	8	18.981	.641	.734
Intercept	247489.815	1	247489.815	8352.781	.000
Phosphorus	29.630	2	14.815	.500	.615
Calcium	7.407	2	3.704	.125	.883
Phosphorus *Calcium	114.815	4	28.704	.969	.449
Error	533.333	18	29.630		
Total	248175.000	27			
Corrected Total	685.185	26			

R Squared = .222 (Adjusted R Squared = -.124)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.70	9	95.0000
.90	9	95.0000
.30	9	97.2222
Sig.		.424

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	9	95.0000
.30	9	96.1111
.60	9	96.1111
Sig.		.688

1.6 ความแปรปรวนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศที่
ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.232 ^a	8	.029	2.327	.065
Intercept	39.966	1	39.966	3208.718	.000
Phosphorus	.071	2	.035	2.832	.085
Calcium	.056	2	.028	2.253	.134
Phosphorus *Calcium	.105	4	.026	2.112	.121
Error	.224	18	.012		
Total	40.422	27			
Corrected Total					

R Squared = .508 (Adjusted R Squared = .290)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.70	9	1.1446
.30	9	1.2481
.90	9	1.2200
Sig.		.056

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.60	9	1.1713
.30	9	1.1996
.90	9	1.2400
Sig.		.067

1.7 ความแปรปรวนของประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลแดงแปลงเพศที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.934 ^a	8	.117	2.430	.056
Intercept	206.729	1	206.729	4304.389	.000
Phosphorus	.309	2	.154	3.217	.064
Calcium	.205	2	.102	2.134	.147
Phosphorus *Calcium	.420	4	.105	2.184	.112
Error	.864	18	.048		
Total	208.527	27			
Corrected Total	1.798	26			

R Squared = .519 (Adjusted R Squared = .306)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	9	2.6841
.90	9	2.7567
.70	9	2.9181
Sig.		.886

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	9	2.7067
.30	9	2.7953
.60	9	2.8568
Sig.		.072

1.8 ความแปรปรวนของการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่
ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	1097.588 ^a	8	137.198	37.714	.000
Intercept	37776.566	1	37776.566	10384.29	.000
Phosphorus	875.003	2	437.501	120.263	.000
Calcium	200.565	2	100.282	27.566	.000
Phosphorus *Calcium	22.020	4	5.505	1.513	.240
Error	65.481	18	3.638		
Total	38939.636	27			
Corrected Total	1163.069	26			

R Squared = .944 (Adjusted R Squared = .919)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.70	9	29.8608		
.30	9		38.7430	
.90	9			44.1267
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	34.1200	
.60	9		38.7582
.30	9		39.8539
Sig.		1.000	.239

1.9 ความแปรปรวนของสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้ง (dry matter)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	2.044,299 ^a	8	255.537	4.648	.000
Intercept	277370.943	1	277370.943	5044.887	.000
Phosphorus	689.353	2	344.676	6.269	.003
Calcium	927.014	2	463.507	8.430	.001
Phosphorus *Calcium	427.933	4	106.983	1.946	.112
Error	3958.604	18	54.981		
Total	283373.846	27			
Corrected Total	6002.903	26			

R Squared = .341 (Adjusted R Squared = .267)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	27	54.4853	
.90	27		59.7793
.70	27		61.2889
Sig.		1.000	.457

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	27	54.5747	
.60	27	58.1430	
.30	27		62.8358
Sig.		.081	1.000

1.10 ความแปรปรวนของสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	24352.346 ^a	8	3044.043	29.627	.000
Intercept	214880.817	1	214880.817	2091.393	.000
Phosphorus	22233.968	2	11116.984	108.199	.000
Calcium	1647.607	2	823.804	8.018	.001
Phosphorus *Calcium	470.770	4	117.693	1.145	.342
Error	7397.662	18	102.745		
Total	246630.825	27			
Corrected Total	31750.008	26			

R Squared = .767 (Adjusted R Squared = .741)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	27	49.1200	
.70	27		58.6200
.90	27		66.9000
Sig.		1.000	.869

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	27	56.8667	
.90	27		57.5733
.70	27		60.2000
Sig.		,422	1.000

1.11 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	27.219 ^a	8	3.402	26.377	.000
Intercept	1211.136	1	1211.136	9389.601	.000
Phosphorus	25.529	2	12.784	98.958	.000
Calcium	.493	2	.246	1.911	.177
Phosphorus *Calcium	1.197	4	.299	2.320	.096
Error	2.322	18	.129		
Total	1240.677	27			
Corrected Total	29.541	26			

R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .886)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	5.3258	
.70	9		7.3000
.90	9		7.4668
Sig.		1.000	.337

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.30	9	6.5201	
.90	9	6.7248	
.60	9	6.8477	
Sig.		.082	

1.12 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในกระดุกสันหลังปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	6.954 ^a	8	.869	2.045	.099
Intercept	2662.714	1	2662.714	6265.195	.000
Phosphorus	2.683	2	1.342	3.157	.067
Calcium	3.333	2	1.667	3.921	.039
Phosphorus *Calcium	.937	4	.234	.551	.701
Error	7.650	18	.425		
Total	2677.317	27			
Corrected Total	14.604	26			

R Squared = .476 (Adjusted R Squared = .243)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	9.5962	
.70	9	9.8427	9.8427
.90	9		10.3532
Sig.		.433	.114

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	9.4440	
.30	9	10.0874	10.0874
.60	9		10.2608
Sig.		.051	.580

1.13 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในมูลของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	1.179 ^a	8	.147	1.990	.060
Intercept	250.340	1	250.340	3380.588	.000
Phosphorus	.041	2	.021	.280	.757
Calcium	.341	2	.171	2.304	.107
Phosphorus *Calcium	.796	4	.199	2.688	.038
Error	5.332	72	.074		
Total	256.851	81			
Corrected Total	6.511	80			

R Squared = .181 (Adjusted R Squared = .090)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	27	1.7278
.70	27	1.7640
.90	27	1.7822
Sig.		.494

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.60	27	1.6736	
.30	27	1.7690	1.7690
.90	27		1.8314
Sig.		.202	.402

1.14 ความแปรปรวนของแคลเซียมในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	107.440 ^a	8	13.430	1337.832	.000
Intercept	6370.726	1	6370.726	6346621.5	.000
Phosphorus	41.698	2	20.849	2076.884	.000
Calcium	11.890	2	5.945	592.210	.000
Phosphorus *Calcium	53.852	4	13.463	1341.116	.000
Error	.181	18	.010		
Total	6478.347	27			
Corrected Total	107.621	26			

R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .998)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	13.6046		
.90	9		16.1799	
.70	9			16.2978
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	14.4639		
.90	9		15.5699	
.60	9			16.0485
Sig.		1.000	1.000	1.000

1.15 ความแปรปรวนของแคลเซียมในกระดุกสันหลังปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	73.869 ^a	8	9.234	391.827	.000
Intercept	13631.071	1	13631.071	578432.2	.000
Phosphorus	39.807	2	19.904	844.609	.000
Calcium	10.584	2	5.292	224.571	.000
Phosphorus *Calcium	23.477	4	5.869	249.063	.000
Error	.424	18	.024		
Total	13705.364	27			
Corrected Total	74.293	26			

R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .992)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.90	9	20.7627		
.70	9		23.1546	
.30	9			23.4896
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	21.8087		
.60	9		22.2882	
.90	9			23.3100
Sig.		1.000	1.000	1.000

1.16 ความแปรปรวนของแคลเซียมในมูลของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	3.226 ^a	8	.403	7.189	.000
Intercept	310.247	1	310.247	5531.132	.000
Phosphorus	1.397	2	.699	12.456	.000
Calcium	1.245	2	.622	11.097	.000
Phosphorus *Calcium	.583	4	.146	2.601	.043
Error	4.039	72	.056		
Total	317.511	81			
Corrected Total	7.264	80			

R Squared = .444 (Adjusted R Squared = .382)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.70	27	1.8471	
.90	27	1.8825	
.30	27		2.1417
Sig.		.584	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	27	1.7870	
.60	27		2.0052
.90	27		2.0790
Sig.		1.000	.256

1.17 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในชีร้่มของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	68.408 ^a	8	8.551	1.183	.401
Intercept	7280.222	1	7280.222	1006.946	.000
Phosphorus	14.368	2	7.184	.994	.407
Calcium	34.058	2	17.029	2.355	.150
Phosphorus *Calcium	19.982	4	4.996	.691	.616
Error	65.070	9	7.230		
Total	7413.700	18			
Corrected Total	133.478	17			

R Squared = .513 (Adjusted R Squared = .079)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	6	18.8833
.70	6	20.4667
.90	6	20.9833
Sig.		.228

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	6	18.1667
.60	6	21.0333
.30	6	21.1333
Sig.		.101

1.18 ความแปรปรวนของแคลเซียมในชีร้่มของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	4.020 ^a	8	.502	.458	.858
Intercept	3511.220	1	3511.220	3198.480	.000
Phosphorus	1.750	2	.875	.797	.480
Calcium	1.510	2	.755	.688	.527
Phosphorus *Calcium	.760	4	.190	.173	.947
Error	9.880	9	1.098		
Total	3525.120	18			
Corrected Total	13.900	17			

R Squared = .289 (Adjusted R Squared = -.343)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	6	13.5500
.30	6	14.0500
.70	6	14.3000
Sig.		.266

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.60	6	13.6500
.90	6	13.9000
.30	6	14.3500
Sig.		.297

1.19 ความแปรปรวนของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	108.778 ^a	8	13.597	.787	.627
Intercept	8406.722	1	8406.722	486.563	.000
Phosphorus	8.778	2	4.389	.254	.781
Calcium	22.111	2	11.056	.640	.550
Phosphorus *Calcium	77.889	4	19.472	1.127	.402
Error	155500	9	17.278		
Total	8671.000	18			
Corrected Total	264.278	17			

R Squared = .412 (Adjusted R Squared = -.111)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	6	20.6667
.70	6	21.8333
.90	6	22.3333
Sig.		.523

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	6	20.6667
.90	6	21.0000
.60	6	23.1667
Sig.		.345

1.20 ความแปรปรวนของดัชนีค้ำต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	2.771 ^a	8	.346	.981	.463
Intercept	217.938	1	217.938	617.016	.000
Phosphorus	.892	2	.446	1.263	.293
Calcium	.550	2	.275	.779	.465
Phosphorus *Calcium	1.329	4	.332	.940	.449
Error	15.895	45	.353		
Total	236.603	54			
Corrected Total	18.665	53			

R Squared = .148 (Adjusted R Squared = -.003)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.90	18	1.9101
.60	18	1.9263
.30	18	2.1905
Sig.		.189

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.60	18	1.8911
.90	18	1.9982
.30	18	2.1376
Sig.		.248

1.21 ความแปรปรวนของความชื้นในตัวอย่างดินแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	27.521 ^a	8	3.440	3.767	.009
Intercept	142765.766	1	142765.766	156332.5	.000
Phosphorus	.502	2	.251	.275	.763
Calcium	11.177	2	5.589	6.120	.009
Phosphorus *Calcium	15.841	4	3.960	4.337	.012
Error	16.438	18	.913		
Total	142809.725	27			
Corrected Total	43.959	26			

R Squared = .626 (Adjusted R Squared = .460)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.70	9	72.5755
.90	9	72.6718
.30	9	72.9008
Sig.		.054

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.60	9	72.1116	
.90	9	72.4292	72.4292
.30	9		73.6073
Sig.		.490	1.000

1.22 ความแปรปรวนของโปรตีนในตัวอย่างดินแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	54.640 ^a	8	6.830	4.683	.003
Intercept	78593.626	1	78593.626	53892.48	.000
Phosphorus	44.857	2	22.429	15.380	.000
Calcium	9.177	2	4.589	3.147	.067
Phosphorus *Calcium	.605	4	.151	.104	.980
Error	26.250	18	1.458		
Total	78674.517	27			
Corrected Total	80.890	26			

R Squared = .675 (Adjusted R Squared = .531)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.70	9	52.3404		
.30	9		54.0217	
.90	9			55.4954
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	53.1327	
.60	9	54.2865	54.2865
.30	9		54.4383
Sig.		.058	.793

1.23 ความแปรปรวนของไขมันในตับปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	122.200 ^a	8	15.275	5.975	.001
Intercept	14595.927	1	14595.927	5709.657	.000
Phosphorus	85.982	2	42.991	16.817	.000
Calcium	16.466	2	8.233	3.221	.064
Phosphorus *Calcium	19.752	4	4.938	1.932	.149
Error	46.014	18	2.556		
Total	14764.141	27			
Corrected Total	168.214	26			

R Squared = .726 (Adjusted R Squared = .605)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.90	9	21.0774		
.70	9		23.2259	
.30	9			25.4484
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	22.5797	
.30	9	22.8262	22.8262
.60	9		24.3458
Sig.		.747	.059

1.24 ความแปรปรวนของถ้ำในด้วปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	111.908 ^a	8	13.989	94.555	.000
Intercept	5654.818	1	5654.818	38223.61	.000
Phosphorus	101.856	2	50.928	344.245	.000
Calcium	.075	2	.037	.253	.779
Phosphorus *Calcium	9.978	4	2.494	16.861	.000
Error	2.663	18	.148		
Total	5769.389	27			
Corrected Total	114.571	26			

R Squared = .977 (Adjusted R Squared = .966)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	11.7878		
.70	9		15.3089	
.90	9			16.3192
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.60	9	14.4102	
.30	9	14.4669	
.90	9	14.5388	
Sig.		.511	

1.25 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในตัวอย่างดินแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	2.923 ^a	8	.365	5.472	.001
Intercept	173.027	1	173.027	2591.753	.000
Phosphorus	1.883	2	.942	14.105	.000
Calcium	.294	2	.147	2.205	.139
Phosphorus *Calcium	.745	4	.186	2.790	.058
Error	1.202	18	.067		
Total	177.152	27			
Corrected Total	4.124	26			

R Squared = .709 (Adjusted R Squared = .579)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	2.1715	
.70	9		2.6252
.90	9		3.0633
Sig.		1.000	.174

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.30	9	2.5314	
.60	9	2.6594	
.90	9	2.6700	
Sig.		.061	

1.26 ความแปรปรวนของคุณค่าโภชนาการของแคลเซียมในหัวปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	16.313 ^a	8	2.039	762.435	.000
Intercept	663.194	1	663.194	247970.0	.000
Phosphorus	13.623	2	6.811	2546.799	.000
Calcium	1.113	2	.557	208.119	.000
Phosphorus *Calcium	1.577	4	.394	147.411	.000
Error	.048	18	.003		
Total	679.555	27			
Corrected Total	16.361	26			

R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	3.9636		
.70	9		5.3179	
.90	9			5.5867
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.60	9	4.7327		
.90	9		4.9115	
.30	9			5.2240
Sig.		1.000	1.000	1.000

1.27 ความแปรปรวนของไขมันในตับปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	358.822 ^a	8	44.853	17.951	.889
Intercept	9970.744	1	9970.744	3990.525	.996
Phosphorus	178.849	2	89.425	35.790	.799
Calcium	85.131	2	42.566	17.036	.654
Phosphorus *Calcium	94.842	4	23.710	9.489	.678
Error	44.975	18	2.499		
Total	10374.541	27			
Corrected Total	403.797	26			

R Squared = .889 (Adjusted R Squared = .839)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.90	9	16.6090		
.70	9		18.3217	
.30	9			22.7197
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	17.9281	
.60	9	17.9947	
.90	9		21.7277
Sig.		.930	1.000

1.28 ความแปรปรวนของความชื้นในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	4.007 ^a	8	.501	2.097	.092
Intercept	156423.525	1	156423.525	654819.2	.000
Phosphorus	1.129	2	.564	2.363	.123
Calcium	2.304	2	1.152	4.822	.021
Phosphorus *Calcium	.575	4	.144	.601	.666
Error	4.300	18	.239		
Total	156431.832	27			
Corrected Total	8.307	26			

R Squared = .482 (Adjusted R Squared = .252)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	9	75.8436
.70	9	76.1635
.90	9	76.3373
Sig.		.056

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	75.8047	
.30	9	76.0336	76.0336
.60	9		76.5062
Sig.		.334	.055

1.29 ความแปรปรวนของโปรตีนในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	66.096 ^a	8	8.262	1.919	.460
Intercept	167893.272	1	167893.272	38998.57	.000
Phosphorus	30.957	2	15.478	3.595	.049
Calcium	5.368	2	2.684	.623	.547
Phosphorus *Calcium	29.772	4	7.443	1.729	.188
Error	77.492	18	4.305		
Total	168036.860	27			
Corrected Total	143.588	26			

R Squared = .460 (Adjusted R Squared = .220)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.70	9	77.3765	
.30	9	79.3161	79.3161
.90	9		79.8754
Sig.		.063	.575

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.90	9	78.2788	
.60	9	78.9246	
.30	9	79.3645	
Sig.		.307	

1.30 ความแปรปรวนของไขมันในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	25.968 ^a	8	3.246	2.642	.041
Intercept	1126.562	1	1126.562	916.977	.000
Phosphorus	8.442	2	4.221	3.436	.054
Calcium	.007	2	.004	.003	.997
Phosphorus *Calcium	17.520	4	4.380	3.565	.026
Error	22.114	18	1.229		
Total	1174.644	27			
Corrected Total	48.082	26			

R Squared = .540 (Adjusted R Squared = .336)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	5.6694	
.30	9		6.8252
.70	9		6.8837
Sig.		1.000	.912

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.90	9	6.4377	
.30	9	6.4644	
.60	9	6.4762	
Sig.		.945	

1.31 ความแปรปรวนของถ้ำในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	4.890 ^a	8	.611	23.064	.000
Intercept	972.565	1	972.565	36696.19	.000
Phosphorus	1.908	2	.954	35.987	.000
Calcium	.667	2	.333	12.578	.000
Phosphorus *Calcium	2.316	4	.579	21.845	.000
Error	.477	18	.027		
Total	977.932	27			
Corrected Total	5.367	26			

R Squared = .911 (Adjusted R Squared = .872)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	5.7890	
.70	9	5.8397	
.90	9		6.3765
Sig.		.517	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	5.8136		
.60	9		5.9934	
.90	9			6.1982
Sig.		1.000	1.000	1.000

1.32 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.036 ^a	8	.005	.796	.613
Intercept	21.981	1	21.981	3839.743	.000
Phosphorus	.021	2	.011	1.864	.184
Calcium	.004	2	.002	.347	.711
Phosphorus *Calcium	.011	4	.003	.487	.745
Error	.103	18	.006		
Total	22.120	27			
Corrected Total	.140	26			

R Squared = .261 (Adjusted R Squared = -.067)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05
		1
.30	9	.8625
.90	9	.9209
.70	9	.9233
Sig.		.123

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
.60	9	.8852	
.90	9	.9094	
.30	9	.9122	
Sig.		.483	

1.33 ความแปรปรวนของคุณค่าโภชนาการของแคลเซียมในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศ

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	.013 ^a	8	.002	1404.343	.000
Intercept	.463	1	.463	392849.4	.000
Phosphorus	.001	2	.000	232.929	.000
Calcium	.001	2	.000	355.298	.000
Phosphorus *Calcium	.012	4	.000	2514.573	.000
Error	2.121E-05	18	1.179E-06		
Total	.476	27			
Corrected Total	.013	26			

R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .998)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.30	9	.1276	
.70	9	.1279	
.90	9		.1373
Sig.		.509	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	.1269	
.30	9	.1272	
.60	9		.1388
Sig.		.551	1.000

1.34 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสที่สะสมในต้นปาล์มแดงแปลงเพศ (P retention)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	520.841 ^a	8	65.105	6.779	.000
Intercept	42709.401	1	42709.401	4447.251	.000
Phosphorus	218.676	2	109.338	11.385	.001
Calcium	183.483	2	91.741	9.553	.001
Phosphorus *Calcium	118.682	4	29.671	3.090	.042
Error	172.864	18	9.604		
Total	43403.106	27			
Corrected Total	693.705	26			

R Squared = .751 (Adjusted R Squared = .640)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	37.0556	
.70	9	38.5589	
.30	9		43.7022
Sig.		.317	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.90	9	37.0311	
.30	9	39.0078	
.60	9		43.2778
Sig.		.193	1.000

1.35 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสที่ขั้วต้งของปลานิลแดงแปลงเพศ (Phosphorus load)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	451.053 ^a	8	56.382	21.388	.000
Intercept	2214.627	1	2214.627	840.120	.000
Phosphorus	296.080	2	148.040	56.159	.000
Calcium	59.338	2	29.669	11.255	.001
Phosphorus *Calcium	95.635	4	23.909	9.070	.000
Error	47.450	18	2.636		
Total	2713.130	27			
Corrected Total	498.503	26			

R Squared = .905 (Adjusted R Squared = .863)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	4.9800		
.70	9		9.0989	
.90	9			13.0911
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.60	9	7.2889		
.30	9		8.9644	
.90	9			10.9167
Sig.		1.000	1.000	1.000

1.36 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสทั้งหมดของปลานิลแดงแปลงเพศ (Total phosphorus)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	196.619 ^a	8	24.577	100.296	.000
Intercept	2551.889	1	2551.889	10413.826	.000
Phosphorus	177.967	2	88.984	363.127	.000
Calcium	10.112	2	5.056	20.632	.000
Phosphorus *Calcium	8.540	4	2.135	8.712	.000
Error	4.411	18	.245		
Total	2752.919	27			
Corrected Total	201.030	26			

R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .968)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	9	6.3100		
.70	9		10.5633	
.90	9			12.3600
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.60	9	8.8535	
.30	9		10.1766
.90	9		10.2033
Sig.		1.000	1.000

1.37 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสที่เป็นของแข็ง (Total solid phosphorus waste)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	26.579 ^a	8	3.322	.	.
Intercept	1385.031	1	1385.031	.	.
Phosphorus	12.302	2	6.151	.	.
Calcium	13.292	2	6.696	.	.
Phosphorus *Calcium	.884	4	.221	.	.
Error	.000	18	.000		
Total	1411.609	27			
Corrected Total	26.579	26			

R Squared = .482 (Adjusted R Squared = .252)

1.38 ความแปรปรวนของฟอสฟอรัสที่เป็นของสารละลาย (Total dissolved phosphorus waste)

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected Model	129.269 ^a	8	16.159	65.876	.000
Intercept	294.558	1	294.558	1200.863	.000
Phosphorus	124.494	2	62.247	253.770	.000
Calcium	2.404	2	1.202	4.899	.020
Phosphorus *Calcium	2.371	4	.593	2.417	.087
Error	4.415	18	.245		
Total	428.242	27			
Corrected Total	133.684	26			

R Squared = .967 (Adjusted R Squared = .952)

Available phosphorus	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.30	3	.6011		
.70	7		3.4533	
.90	6			5.8544
Sig.		1.000	1.000	1.000

Available calcium	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.60	9	2.8900	
.90	9		3.4344
.30	9		3.5844
Sig.		1.000	.529

