

The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 28
Issue 4 December, 1998

Article 7

12-1-1998

การหาค่า BIOAVAILABILITY ของสารอาหาร

พิชญ์วรรณ ปรียพัฒนานนท์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Recommended Citation

ปรียพัฒนานนท์, พิชญ์วรรณ (1998) "การหาค่า BIOAVAILABILITY ของสารอาหาร," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 28: Iss. 4, Article 7.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1770>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol28/iss4/7>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

การหาค่า BIOAVAILABILITY ของสารอาหาร

ทิพย์วรรณ ปรีพัฒนานนท์ *

Abstract

Tippawan Paripatananont*

METHODOLOGY FOR ASSESSING NUTRIENT BIOAVAILABILITY

Bioavailability value (BV) is defined as the degree to which an ingested nutrient in a particular source is absorbed in a form that can be utilized in metabolism by animal. It indicates the nutritional value of a test substance relative to a standard substance. There are several assays used in bioavailability experiments, such as slope-ratio assay, parallel lines assay, three-point assay and standard curve assay. Each of them has its own assumptions for the proper use. However, the best assay method is considered to be the one for which the corresponding model fits the data. The slope-ratio is the most common form of assay used to determine BV. By this assay, BV estimates will be meaningful, two assumptions must be hold: intersection and linearity of the regression lines.

Key words : bioavailability, slope-ratio assay, variable, experimental design

* The Institute of Agricultural Technology, Walailak University, Tasala, Nakhon Si Thammarat 80160.
Telephone 075-339124: voice ext. 2101, fax ext. 2102 Email address: ptippawa@praduu2.wu.ac.th

*มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ 222 ต.ไทยบุรี อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80160
โทรศัพท์ 075-339124 ต่อ 2101 โทรสาร ต่อ 2102 Email: ptippawa@praduu2.wu.ac.th

บทคัดย่อ

ทิพย์วรรณ ปริพัฒนานนท์

การหาค่า Bioavailability ของสารอาหาร

ค่า bioavailability ของโภชนะ คือ ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของโภชนะที่สัตว์ดูดซึมได้จริง ๆ จากอาหารที่กิน และเป็นส่วนที่นำไปใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึม ค่านี้แสดงให้เห็นถึงคุณค่าของโภชนะโดยเปรียบเทียบระหว่างสารอาหาร 2 ชนิด การหาค่า bioavailability มีหลายวิธี คือ slope-ratio assay, parallel lines assay, three-point assay และ standard curve assay แต่ละวิธีก็จะมีข้อกำหนด และความเหมาะสมของการใช้งานแตกต่างกันไป วิธีที่ดีที่สุดนั้นย่อมเป็นวิธีที่เหมาะสมกับข้อกำหนดมากที่สุด ในการทดลองหาค่า bioavailability ของสารอาหารนั้น slope-ratio assay เป็นวิธีที่นิยมกันที่สุด มีข้อกำหนดอยู่ 2 ข้อ คือ การตอบสนองของสัตว์จะมีค่าเท่ากันเมื่อไม่ได้เติมโภชนะที่ต้องการเปรียบเทียบทั้งสองชนิดในอาหาร (intersection) และความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองและปริมาณโภชนะที่ทดลองต้องเป็นเส้นตรง (linearity)

คำสำคัญ : bioavailability slope-ratio assay ตัวแปร การออกแบบการทดลอง

บทนำ

ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์ให้ครบคุณค่าทางโภชนะและมีราคาต่ำสุดนั้น ผู้คำนวณสูตรจำเป็นต้องคำนึงถึงองค์ประกอบหลัก 3 ประการคือ 1) ส่วนประกอบทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ 2) ความต้องการโภชนะของสัตว์ชนิดนั้น 3) bioavailability ของโภชนะเหล่านั้น ข้อมูลที่ผู้ประกอบสูตรอาหารต้องการในสองประการแรกนั้น หาได้ไม่ยากในปัจจุบัน สำหรับองค์ประกอบแรก โรงงานผลิตอาหารสัตว์ขนาดใหญ่มีห้องปฏิบัติการเพื่อวิเคราะห์โภชนะของวัตถุดิบที่ใช้ด้วยตนเอง หรือสามารถสอบถามได้เมื่อซื้อวัตถุดิบบางชนิดในจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากต่างประเทศ ผู้ผลิตอาหารสัตว์รายเล็กสามารถใช้ข้อมูลเหล่านี้จาก Nutrient Requirements ของสัตว์ต่างๆที่ตีพิมพ์โดย Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture ของ National Research Council (NRC) ได้ หนังสือของ

NRC นี้จะแบ่งแยกเป็นเล่มตามชนิดของสัตว์ องค์ประกอบที่ 2 ก็สามารถหาได้จาก NRC เล่มเดียวกัน ขณะที่ bioavailability ของโภชนะเหล่านั้นเป็นข้อมูลที่หาได้ยากมาก จนแทบจะไม่มีเลยทีเดียว ทั้งๆที่ความสำคัญของค่า bioavailability มีมากในการคำนวณสูตรอาหาร ดังนั้น จึงควรที่จะนำวิธีการหาค่า bioavailability มานำเสนอเพื่อที่จะดึงดูดให้ผลงานทางด้านนี้มีมากขึ้น เพื่อเป็นประโยชน์ต่อไปในด้านอาหารสัตว์

ค่า bioavailability และความหมาย

ความสามารถของสัตว์ในการนำโภชนะในอาหารไปใช้นั้น เรียกกันหลายอย่างเช่น nutrient utilization, bioavailability, biological availability, biopotency และรวมทั้ง bioefficiency คำเหล่านี้ถูกนำมาใช้สลับเปลี่ยนกันตลอดเวลา และมีความหมายเดียวกันคือ “ระดับการดูดซึมของโภชนะที่สัตว์กินเข้าไป จนอยู่ในรูปแบบที่สามารถ นำไป

ใช้ในการ متابอลิซึมได้" (Ammerman et al., 1995; Forbes and Erdman, 1983; Southgate, 1988)

ค่า bioavailability (BV) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ แสดงถึงสัดส่วนของโภชนะที่สัตว์ดูดซึมไปใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อ ค่า BV มักใช้แสดงในเชิงเปรียบเทียบระหว่างโภชนะของสารอาหารสองชนิดขึ้นไป โดยที่ชนิดหนึ่งเป็นสารมาตรฐาน (standard) หรือเป็นสิ่งที่ใช้กันทั่วไปอยู่แล้ว และชนิดอื่น ๆ เป็นสารทดสอบ (test) ซึ่งก็คือสารที่ต้องการนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพนั่นเองเช่น BV ของโภชนะสังกะสีในสาร zinc methionine มีค่า 177 % เมื่อเปรียบเทียบกับ zinc sulfate ในอาหารลูกไก่ (Wedekind et al., 1992) เป็นต้น

การหาค่า BV มีหลายวิธีการที่สามารถเลือกใช้ได้ ขึ้นอยู่กับการออกแบบของงานทดลองที่ทำ วิธีการต่างๆประกอบด้วย slope-ratio assay, parallel lines assay, three-point assay และ standard curve assay (Finney, 1978) ดังแสดงในรูปที่ 1

Slope-ratio assay เป็นที่นิยมกันมากในการทดลองด้านการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของโภชนะ (Littell et al., 1995) และยารักษาโรค (Finney, 1978) ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป โดยที่ต้องมีข้อกำหนดอยู่ 2 ข้อ คือ 1) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของโภชนะและการตอบสนองต้องเป็นเส้นตรง (linearity) และ 2) สมการทั้งสองต้องมีการตัดกัน (intersection) การคำนวณค่า BV ทำโดยการเปรียบเทียบ slope ของเส้นตรงนั่นเอง (รูปที่ 1)

ในบางกรณี ที่ความสัมพันธ์ของโภชนะหรือสารที่ต้องการวัดประสิทธิภาพ (X) และการตอบสนอง (Y) ไม่เป็นเส้นตรง อาจต้องใช้วิธีการ

แปรรูปข้อมูลให้อยู่ในรูปของ logarithm หรืออื่น ๆ เพื่อให้เกิด linearity ให้ได้ตามที่ข้อกำหนดได้วางไว้ เมื่อหา linearity ได้ ก็จะมีค่า slope และมีทางเป็นไปได้หลายๆ กรณีที่ความสัมพันธ์เส้นตรงเหล่านั้นมี slope เท่ากัน เมื่อเป็นเช่นนั้นการหาค่า BV ต้องใช้ parallel lines assay ซึ่งจะเหมาะสมกว่า การคำนวณ BV ก็จะสามารถขึ้นได้โดยวัดค่าระยะทางระหว่างเส้นขนานทั้งสองนั่นเอง (Littell et al., 1995)

Three-point assay จัดเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ดัดแปลงมาจาก slope-ratio assay โดยที่มีข้อกำหนดเหมือนกับ slope-ratio assay คือ ความสัมพันธ์ต้องเป็นเส้นตรง (linearity) และต้องมีการตัดกัน (intersection) ปริมาณของโภชนะที่ทดสอบต้องมีอย่างน้อย 2 ระดับ คือ จุดที่ $X=0$ วัดดูว่าการตอบสนอง (Y) เป็นเท่าไร อีกจุดคือจุดของการตอบสนองเมื่อใส่โภชนะที่ต้องการทดสอบ 2 ชนิดนั้นลงไป โดยวัดค่าการตอบสนองมาพล็อตกราฟหรือนำมาหาสมการเส้นตรง แล้วเปรียบเทียบ slope ของทั้งสองสมการเมื่อต้องการคำนวณหาค่า BV (Littell et al., 1991)

Standard curve assay ก็เป็นอีกวิธีที่คล้ายคลึงกับ three point assay ในลักษณะของการนำผลการตอบสนองไปเปรียบเทียบกัน แต่ต่างกับ three-point assay ในลักษณะที่มีระดับของข้อมูลจากสารมาตรฐานมีมากกว่า และเมื่อต้องการหาค่า BV ของสารใด ที่หาค่าการตอบสนองมา 1 จุดก็สามารถใช้เปรียบเทียบกับ standard curve ได้ (Finney, 1978)

ความแม่นยำของค่า BV นั้น ขึ้นอยู่กับความถี่ของข้อมูล และเนื่องจาก slope-ratio assay และ parallel lines assay จำเป็นต้องมีข้อมูลในการ

สร้างกราฟมากกว่าวิธีอื่น ๆ ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น จึงจัดเป็นวิธีที่แม่นยำกว่า (Miles et al., 1993 ; Pott et al., 1994 ; Littell et al., 1995) อย่างไรก็ตาม การสรุปว่าวิธีใดเหมาะสมที่สุดนั้น ควรพิจารณาว่าข้อกำหนดที่ต้องการนั้นเข้ากันได้กับข้อมูลที่มีอยู่หรือไม่ เมื่อมีสมการเส้นตรง 2 เส้นตัดกัน การใช้ slope-ratio assay จะเหมาะสมที่สุด หากเส้นตรงทั้งสองนั้นขนานกัน การใช้ parallel line assay จะดีที่สุดในการทดสอบ และหากมีเส้นตรง 2 เส้นตัดกัน แต่เส้นมาตรฐานมีระดับของโภชนะมาตรฐานมากกว่า ขณะที่โภชนะที่ทดสอบมีเพียงระดับเดียว standard curve assay เป็นวิธีที่ควรใช้ หากข้อมูลทั้งหมดมีเพียง 3 จุด three-point assay จะเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด (Littell et al., 1995) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ผลของการหาค่า BV ที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นเป็นผลมาจากการวางแผนการทดลองที่รัดกุมนั่นเอง

Slope-ratio assay

ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้นแล้วว่า เนื่องจาก slope-ratio assay เป็นวิธีการที่ใช้กันมาก จึงได้นำการหาค่า BV โดยวิธีการ slope-ratio assay มาใช้อธิบายในการหาค่า BV ดังต่อไปนี้

Slope-ratio assay ทำโดยหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโภชนะที่สัตว์กิน (X) และการตอบสนองของสัตว์ (Y) ให้อยู่ในรูปของ $Y = a + bX$ เมื่อมีสารอาหารที่ต้องการนำมาเปรียบเทียบกับอยู่สองชนิด กำหนดให้ s เป็นสารที่ใช้กันอยู่ทั่วไป (standard) และ t เป็นสารที่ต้องการทดสอบศักยภาพ (test) ดังนั้นจากข้อมูลการ ทดลองก็จะได้สมการความสัมพันธ์แบบเส้นตรง 2 ชุดคือ

$$Y_s = a_s + b_s X \text{ และ } Y_t = a_t + b_t X$$

ด้วยวิธี slope-ratio นี้ มีข้อกำหนดว่า การตอบสนองของสัตว์ต่อสาร s และ t ที่ระดับ $X = 0$ นั้นจะมีค่าเท่ากัน ดังนั้น $a_s = a_t$ นั่นก็คือ สมการทั้งสองจะตัดกันที่จุด $X = 0$ เมื่อเขียนสมการทั้งสองใหม่ก็จะได้ $Y_s = a + b_s X$ และ $Y_t = a + b_t X$ สำหรับ สาร s และสาร t ตามลำดับ การหาค่า BV ทำได้โดยการหา ratio ของ slopes ของสมการทั้งสอง ซึ่งก็คือ

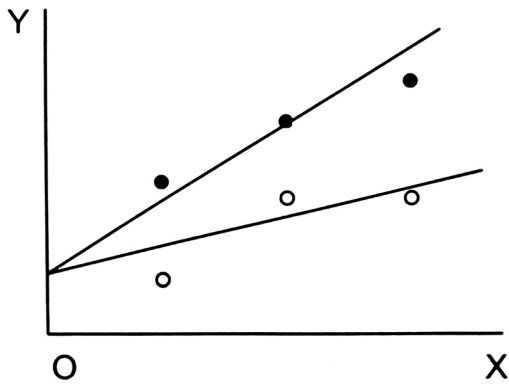
$$\% BV = (b_t / b_s) 100$$

ตัวอย่างการหาค่า bioavailability จาก slope-ratio assay

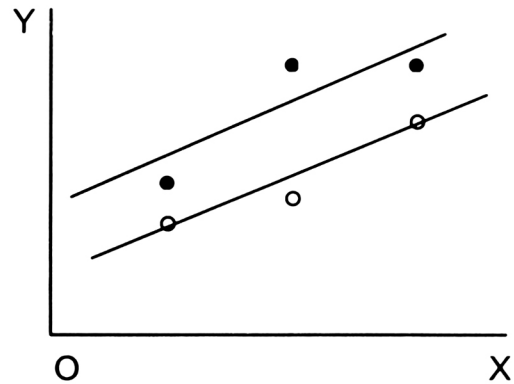
การกำหนดตัวแปร

การหาค่า BV ต้องอาศัยความเข้าใจด้านโมเดลทางสถิติและการออกแบบการทดลองทางด้านสถิติขั้นพื้นฐานที่ตรงกันที่ตรงกันถึงคือ ค่าใดจะเป็นตัวแปรอิสระ (independent variable, X) และค่าใดจะเป็นตัวแปรตาม (dependent variable, Y) สิ่งที่ยอมรับกันเป็นตัวแปรอิสระหรือค่า X คือปริมาณโภชนะที่สัตว์กิน เช่น %สังกะสีในอาหาร เมื่อต้องการวัดค่า BV ของสังกะสี 2 ชนิดว่าอันไหนมีคุณค่ามากกว่ากันเป็นต้น

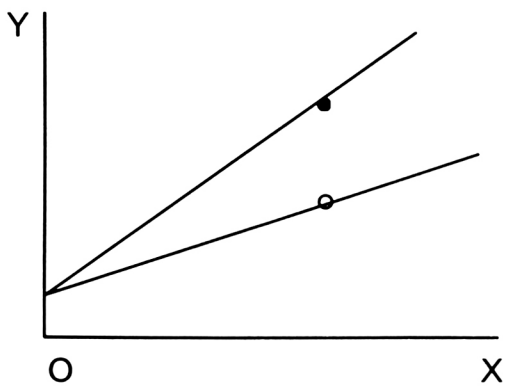
ตัวแปรตาม หรือค่า Y คือผลตอบสนองที่วัดได้จากการทดลอง ในกรณีข้างต้นข้อมูลที่จะนำมาเป็นค่า Y อาจจะเป็นค่าสังกะสีในกระดูก (bone zinc) หรือน้ำหนักเพิ่มของสัตว์ทดลอง (weight gain) (Paripatananont and Lovell, 1995a) เป็นต้น โดยคำนึงว่าผลตอบสนองต่อโภชนะที่ทดลองจะเด่นชัดและวัดได้ง่ายที่สุดใด หากทดลองเรื่องธาตุเซเลเนียม (selenium) ก็อาจให้ Y เป็นน้ำหนักตัวเพิ่ม หรือระดับ glutathione peroxidase activity ในตับของสัตว์ทดลอง (Wang and Lovell, 1997)



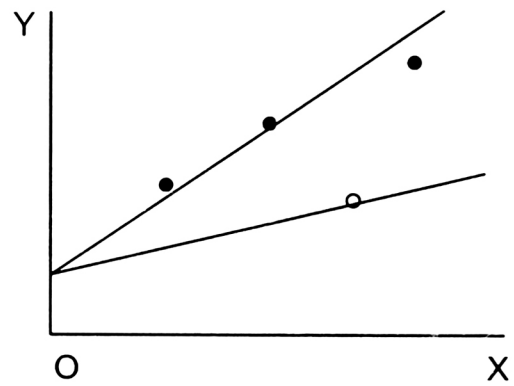
ก. Slope-ratio assay



ข. Parallel lines



ค. Three-point assay



ง. Standard curve assay

รูปที่ 1 แสดงชนิดของ assay ที่ใช้ในการคำนวณหาค่า bioavailability ของโมฆะ จุดทึบแสดงถึงข้อมูลชุดที่หนึ่ง จุดสว่างแสดงถึงข้อมูลชุดที่สอง (ดัดแปลงจาก Finney, 1978)

ตารางที่ 1 อัตราอดเฉลี่ยจากโรค ESC (%) เมื่อปลาดุกอเมริกันได้รับธาตุสังกะสีซัลเฟต และสังกะสีคีเลทที่ระดับต่างๆ (มก./กก.อาหาร) (ดัดแปลงจาก Paripatananont และ Lovell, 1995b)

ระดับธาตุสังกะสี (X, มก./กก.อาหาร)	สังกะสีคีเลท (Y _c , %)	สังกะสีซัลเฟต (Y _s , %)
0	0	0
5	64	11
10	67	26
15	72	31
30	81	75

โดยทั่วไปแล้วหากสามารถวัดผลตอบสนองจากสัตว์ได้มากกว่าหนึ่งชนิด ก็จะนำข้อมูลทั้งหมดมาใช้คำนวณ เพื่อหาผลสรุปถึงค่า BV ที่ถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น

การออกแบบการทดลอง

การทดลองที่มีการออกแบบอย่างเหมาะสม มีผลให้การเก็บข้อมูลเพื่อใช้ในการหาค่า BV ง่ายยิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่น การหาค่า BV ในการทดลองเรื่องการเปรียบเทียบสังกะสีคีเลท (zinc chelate) กับสังกะสีซัลเฟต (zinc sulfate) ในการสร้างภูมิต้านทานโรคของปลาดุกอเมริกัน (Paripatananont and Lovell, 1995b) ที่จะกล่าวต่อไป

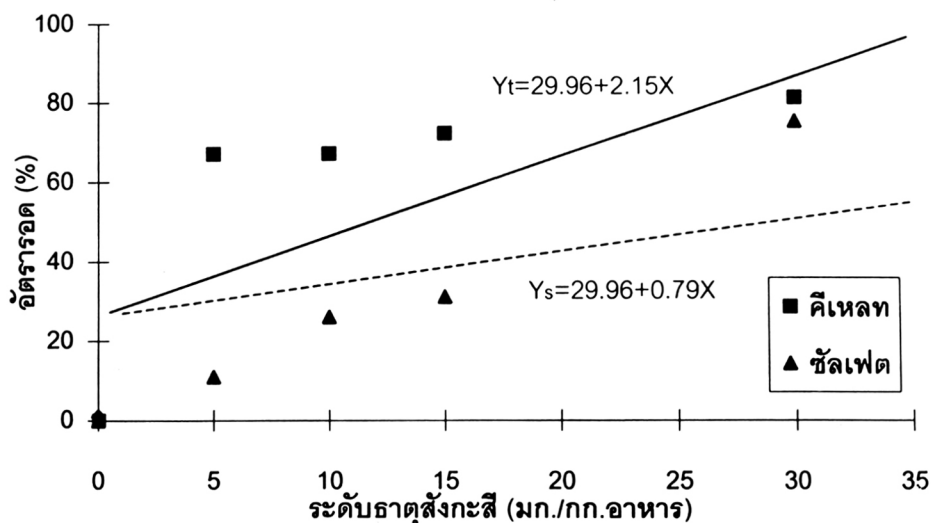
ในงานวิจัยนี้ สัตว์ทดลองได้รับโภชนา 2 ชนิดคือ สังกะสีคีเลทกับสังกะสีซัลเฟต ในระดับต่างๆกัน (0, 5, 10, 15, 30 มก./กก.อาหาร) โดยนำโภชนาชนิดนั้นไปผสมในอาหารสัตว์และใช้เลี้ยงสัตว์ไประยะเวลาหนึ่ง อาหารนั้นต้องไม่มีความแตกต่างอื่นใด นอกจากชนิดและระดับโภชนาที่ใช้ทดสอบเท่านั้น และเพื่อให้การหาค่า BV นี้ตรง

กับข้อกำหนดของ slope-ratio assay ระดับโภชนาที่ใช้ควรเริ่มตั้งแต่ 0 คือไม่ใส่โภชนาเลย และเพิ่มระดับลงไปอย่างเหมาะสมตาม treatment ที่ได้วางแผนทดลองเอาไว้ ดังนั้นความสัมพันธ์ของชนิดโภชนาและระดับโภชนาจะอยู่ในลักษณะของ factorial treatment combinations ซึ่งเป็นแบบหนึ่งของแผนการทดลองทันที และจะเป็นแบบแผนการทดลองที่เหมาะสมต่อการหาค่า BV มาก (Littell et al., 1995)

หน่วยทดลอง (experimental units) อาจจะเป็นสัตว์ 1 ตัว หรือ 1 กรง ปลา 1 ตู้ หรือ 1 บ่อก็ได้ ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการทดลอง อย่างไรก็ตามต้องระลึกไว้เสมอว่าการออกแบบการทดลองนั้นควรส่งผลให้ได้ข้อมูลที่ตามต้องการเก็บ มีลักษณะครบตามข้อกำหนดทั้ง 2 ข้อของ slope-ratio assay

การหาสมการความสัมพันธ์ของ X และ Y

ขั้นตอนนี้ประกอบด้วยการใช้ regression methods เพื่อช่วยในการหาสมการที่เป็นตัวแทนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโภชนาที่สัตว์กิน (X)



รูปที่ 2 กราฟและสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการรอดของปลาที่เป็นโรค ESC และสังกะสีคีเลทและชัลเฟตที่ได้รับจากอาหาร (ดัดแปลงจาก Paripatananont and Lovell, 1995b)

และผลการตอบสนองที่วัดได้ (Y) ตารางที่ 1 แสดงให้เห็นถึงอัตราการรอด (%) จากโรค Enteric Septicemia of Catfish เมื่อสัตว์ได้รับสังกะสีสองชนิดในปริมาณที่ต่าง ๆ กัน

จากตัวอย่างนี้ กำหนดให้สังกะสีชัลเฟตเป็นสาร standard (s) เนื่องจากเป็นแหล่งของสังกะสีที่ใช้กันแพร่หลาย สังกะสีคีเลทซึ่งเป็นสาร test (t) และเป็นธาตุสังกะสีที่ต้องการนำมาทดสอบค่า BV

วิธีการหาสมการนั้นสามารถใช้โปรแกรมทางสถิติซึ่งมีใช้กันอยู่มากมาย เช่น SAS, SPSS หรือ MSeExcel และ Lotus 1-2-3 ก็ได้

การคำนวณค่า BV

ตัวอย่างการคำนวณค่า BV ในที่นี้ใช้ข้อมูลจากตารางที่ 1 Y_s , Y_t คืออัตราการรอดของปลาเมื่อได้รับสังกะสีชัลเฟตและสังกะสีคีเลทตามลำดับ จะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ดังนี้คือ (SAS, 1987)

$$Y_s = 29.96 + 0.79X \quad (b_s = 0.79)$$

$$Y_t = 29.96 + 2.15X \quad (b_t = 2.15)$$

สมการทั้งสองสามารถแสดงในรูปของกราฟได้ดังรูปที่ 2 ดังนั้นค่า BV ของสังกะสีคีเลท (t) ในการเพิ่มอัตราการรอดของปลา คำนวณได้ดังนี้คือ

$$\begin{aligned} \%BV &= (b_t / b_s) 100 \\ &= (2.15 / 0.79) 100 \\ &= 272\% \end{aligned}$$

ดังนั้นหากใช้สังกะสีชัลเฟต 80 มก. ในอาหาร 1 กก. จะมีผลต่ออัตราการรอดของปลาจากโรค ESC เท่ากับใช้สังกะสีคีเลท = $80 / 2.72 = 29.4$ มก.

สรุป

Slope-ratio assay เป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยากและมีความแม่นยำพอสมควรที่จะใช้คำนวณหาค่า BV แต่มีข้อแม้คือจำเป็นต้องมีระดับโภชนะมากกว่า 3 ระดับขึ้นไปจึงจะมีผลน่าเชื่อถือเป็นที่ยอมรับ

รับได้ ระดับโภชนาที่ทดสอบยิ่งมากขึ้นเพียงใด ความแม่นยำก็จะเพิ่มมากขึ้น ส่วนวิธีอื่นเช่น three-point assay หรือ standard curve assay ใช้ระดับโภชนาที่น้อยกว่า แต่ความแม่นยำก็น้อยกว่าเช่นกัน (Finney, 1978) วิธีทั้งสองนี้เหมาะสำหรับการทดลองที่มีขีดจำกัดทางด้านจำนวน treatment ส่วนวิธี Parallel lines assay นั้นใช้สำหรับข้อมูลการตอบสนองที่ไม่มี intersection รายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับเนื้อหาและตัวอย่าง ผู้ที่สนใจสามารถศึกษาได้จาก Finney (1978) และ Littell และคณะ (1995)

เอกสารอ้างอิง

- Ammerman C. B., Baker D. H., and Lewis A. 1995. Bioavailability of Nutrients for Animals : Amino Acids, Minerals, and Vitamins. New York: Academic Press. 1-3.
- Finney D. J. 1978. Statistical Method in Biological Assay. 3rd ed. London: Griffen. 324 pp.
- Forbes R. M. and Erdman J. W. 1983. Bioavailability of trace mineral elements. Ann. Rev. Nutr. 3: 213.
- Littell R. C. , Freund R. T. and Spector P. C. 1991. SAS System for linear Models. 3rd ed. North Carolina: SAS Institute. 121 pp.
- Littell R. C., Lewis A. J., and Henry P. R. 1995. Statistical Evaluation of Bioavailability Assays. In : Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals, and Vitamins. C. B. Ammerman (ed). New York: Academic Press. 5-32.
- Miles R. D., Comer C. W., and Henry P. R. 1993. Relative phosphorus bioavailability of two feed-grade phosphate sources for chicks. Poultry Science 72 : 182-185.
- Paripatananont T. and Lovell R. T. 1995a. Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture. 133:73-82.
- Paripatananont T. and Lovell R. T. 1995b. Response of channel catfish fed organic and inorganic sources of zinc to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Journal of Aquatic Animal Health 7 : 147-154.
- Pott E. B., Henry P. R., Ammerman C. B., Merritt A., Madison J. B., and Miles R. D. 1994. Relative bioavailability of copper in a copper-lysine complex for chicks and lambs. Animal Feed Science Technology 45 : 193.
- SAS. 1987. SAS Users Guide. North Carolina: SAS Institute. 1126 pp.
- Southgate D. A. T. 1988. AFRC Institute of Food Research. Annual Report. Reading: Shinfield. 13 pp.
- Wang C. and Lovell R. T. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 152 : 1-12.
- Wedekind K. J., Hortin A. E. and Baker D. H. 1992. Methodology for assessing zinc bioavailability : efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate and zinc oxide. Journal of Animal Science 70 : 178-187.