

## ภาคผนวก ก

## วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของปลา  
(AOAC, 1980)

## 1.1 การวิเคราะห์ความชื้น

1.1.1 นำขวดซึ่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นใน  
โถดูดความชื้น

1.1.2 ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดซึ่งโดยละเอียด

1.1.3 ชั่งตัวอย่างใส่ขวดซึ่งประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด

1.1.4 นำตัวอย่างเข้าตู้อบ อบโดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

1.1.5 นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง

1.1.6 ทำซ้ำข้อ 1.1.4 – 1.1.5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่โดยน้ำหนักที่หายไป คือ น้ำหนัก  
ของความชื้น

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

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

โดยที่ a คือ น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

b คือ น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบแห้ง

## 1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

1.2.1 ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ถ้วยกระเบื้องเคลือบ บันทึกน้ำหนัก  
โดยละเอียด

1.2.2 นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง  
จนเถ้าเป็นสีขาว

1.2.3 นำเข้าโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น นำออกมาชั่งน้ำหนักโดยละเอียด

การคำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้า

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(b - a)}{w} \times 100$$

โดยที่ a คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ  
 b คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของเถ้าหลังการเผา  
 w คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

### 1.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

#### 1.3.1 สารเคมี

สารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform) : เมทานอล (methanol) อัตราส่วน 2 : 1

#### 1.3.2 วิธีการ

- (1) อบถ้วยสกัดไขมัน (cup) ที่มีลูกแก้ว 2 – 3 เม็ด และตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อบจนแห้งแล้วตั้งทิ้งไว้เย็นในโถดูดความชื้น
- (2) ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วให้ได้น้ำหนักคงที่ ( $W_1$ )
- (3) ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรอง ประมาณ 1 – 2 กรัม ( $W_2$ ) ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรองสาร (thimble) ที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน
- (4) นำถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วที่ชั่งไว้แล้วเติมสารละลายคลอโรฟอร์ม : เมทานอล 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องสกัดไขมันให้เรียบร้อย
- (5) เปิดเครื่องสกัดไขมัน ปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที
- (6) เลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที
- (7) ปิดวาล์ว เปิดสวิตช์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหยออกไป 5 นาที
- (8) ปิดเครื่อง ปิดอากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปุ่ม evaporation กลับที่เดิม นำถ้วยสกัดไขมันออกจากเครื่องวางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนแห้ง
- (9) นำถ้วยสกัดไขมันออกมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ( $W_3$ )

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมัน

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

โดยที่  $W_1$  คือ น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้ว

$W_2$  คือ น้ำหนักตัวอย่าง

$W_3$  คือ น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วและตัวอย่างหลังการอบ

## 1.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

### 1.4.1 สารเคมี

(1) กรดซัลฟูริกเข้มข้น (sulfuric acid,  $H_2SO_4$ ) 93 - 98 เปอร์เซ็นต์

(2) สารเร่งรวม (catalyst mixture) เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต

(coppersulfate,  $CuSO_4$ ) 7 กรัม กับโปแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate,  $K_2SO_4$ ) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

(3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) 45 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 450 กรัมในน้ำกลั่น ปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

(4) สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตรในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

(5) สารละลายกรดบอริก (boric acid,  $H_3BO_3$ ) 4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายกรดบอริก 4 กรัมในน้ำกลั่น ต้มจนกระทั่งละลายหมดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

(6) อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลินบลู (methylene blue) 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทิลินบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

(7) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate,  $Na_2CO_3$ ) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 - 270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งสารดังกล่าวมา 1.325 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 250 มิลลิลิตร

(8) เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator) เตรียมโดยละลาย เมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

#### 1.4.2 การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ทำการไตเตรทด้วย สารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร  $N_1V_1 = N_2V_2$

$$\text{หรือนอร์มอลลิตีของกรดเกลือ} = \frac{\text{น้ำหนัก (กรัม) ของโซเดียมคาร์บอเนต} \times 1000}{\text{สารละลายกรดเกลือ (มิลลิลิตร)} \times 52.994}$$

#### 1.4.3 วิธีการวิเคราะห์

##### ก. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

(1) ชั่งตัวอย่างด้วยกระดาษชั่งสารที่ปราศจากไนโตรเจน ให้ได้น้ำหนัก 0.5 กรัม บันทึกน้ำหนักโดยละเอียด ใส่ตัวอย่างลงในขวดวิเคราะห์โปรตีน

(2) เติมสารเร่งรวม 3 กรัม

(3) เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 10 มิลลิลิตร

(4) นำไปให้ความร้อนด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายในขวดวิเคราะห์ใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

##### ข. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

(1) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวิเคราะห์

(2) ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับชุดเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพูบรรจุกรดบอริก 40 มิลลิลิตร โดยให้ปลายของท่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริก เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดวิเคราะห์อย่างช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

(3) ใส่อินดิเคเตอร์ลงในกรดบอริก 2 - 3 หยด

(4) ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีก๊าซแอมโมเนียออกมา เมื่อกรดบอริก เปลี่ยนเป็นสีเขียวแล้วจึงทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ออกจาก เครื่องกลั่น

#### ค. ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

(1) นำไปไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ที่แน่นอน จนกระทั่งกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน

(2) บันทึกปริมาตรของกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้เพื่อการคำนวณต่อไป

การคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีน

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

โดยที่  $V_1$  คือ ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่าง

$V_2$  คือ ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรทกับ blank

$N$  คือ ความเข้มข้นของกรดเกลือ (นอร์มอล)

$W$  คือ น้ำหนักตัวอย่าง

### 1.5 การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส (modified AOAC, 1990)

#### 1.5.1 สารเคมี

1. กรดสำหรับย่อยตัวอย่าง: เตรียมโดยการชั่งแอมโมเนียมเมตาวานาเดท (ammonium metavanadate,  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) 0.06 กรัมละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน (deionized water) ซึ่งเดือดประมาณ 10 มิลลิลิตร วางไว้ให้เย็นแล้วจึงเทลงในส่วนผสมของกรดสองชนิดคือ กรดเปอร์คลอริก ( perchloric,  $\text{HClO}_4$ ) เข้มข้น (70-72%) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และกรด ไนตริก (nitric acid,  $\text{HNO}_3$ ) เข้มข้น (65%) ปริมาตร 1,250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2. สารละลายวานาโดโมลิบเดท (vanadomolybdate): เตรียมโดย

2.1 นำแอมโมเนียมโมลิบเดท (ammonium molybdate): 40 กรัม ละลายใน น้ำเดือดปราศจากไอออน ซึ่งมีปริมาตร 400 มิลลิลิตร

2.2 นำแอมโมเนียมเมตาวานาเดท: 2 กรัม ละลายในน้ำเดือดที่ปราศจาก ไอออน ซึ่งมีปริมาตร 300 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดไนตริกเข้มข้น 160 มิลลิลิตร

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

3. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (standard phosphorus) 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร : เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณ 40380 กรัม ในน้ำที่ปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. เวิร์คกิง สแตนดาร์ด ฟอสฟอรัส (working standard phosphorus) ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร: เตรียมโดยนำสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากข้อ 3) ปริมาตร 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 20% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร (กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 20% เตรียมโดยสารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น(70-72%) ปริมาตร 282 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ที่มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 1.5.2 วิธีการ

##### ก. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณ 200-300 มิลลิกรัม ใส่ในขวดชมพูขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมกรดย่อย( จากข้อ 1 ในหัวข้อสารเคมี) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ อย่างน้อย 2 ชั่วโมง

3. นำไปย่อยบนภาดให้ความร้อน (hot poate) ค่อย ๆ ปรับความร้อนให้ได้ 80 องศาเซลเซียส ระยะแรกจะเห็นควันสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาของกรดไนตริกกับ อินทรีย์คาร์บอน เมื่อควันสีน้ำตาลหมดปรับอุณหภูมิเป็น 190 องศาเซลเซียส จะสังเกตเห็นควันสีขาว ของกรดเปอร์คลอริก การย่อยจะสิ้นสุดเมื่อสารละลายในขวดชมพูใส และเมื่อกวางทิ้งไว้ให้ เย็นแล้วหยดน้ำที่ปราศจากไอออนลงในสารละลายในขวดชมพูจะได้สารละลายสีใส

4. ปรับปริมาตรของสารละลายในขวดชมพูด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนให้ได้ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. เก็บสารละลายที่ผ่านการย่อยแล้วไว้ในขวดพลาสติก เพื่อรอการนำไปวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

ข. ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว และสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25, และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิตร ใส่ในหลอดขนาด 10 มิลลิตร

2. เติมสารละลายวานาโดโมลิบเดท (1:3) ปริมาตร 5 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันวางทิ้งไว้ 20 นาที

3. นำสารละลายในหลอดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 420 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เท่ากับ 0 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน

นำค่าปริมาณฟอสฟอรัสที่ได้จากกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสตามสูตร

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

เมื่อ X = ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่าง ( มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน(มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรของตัวอย่างที่ปรับปริมาตรหลังการย่อย (มิลลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

## 2. วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

### 2.1 แอมโมเนียรวม (Strickland and Parsons, 1972)

#### สารเคมี

1. น้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนีย

เตรียมได้โดยปล่อยน้ำกลั่นผ่านคอลัมน์ บรจุ cation exchange resin ซึ่งเป็นกรดแก่

2. สารละลายฟีนอล (phenol solution) เตรียมโดยละลายฟีนอล 20 ก. กับเอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) จนปริมาตรได้ 200 มล.

3. สารละลายไซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ( $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

ละลายไซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 1 ก. ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 200 มล.

4. สารละลายอัลคาไลน์ (alkaline reagent)

ละลายโซเดียมซัลเฟต 100 ก. และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 ก. ในน้ำกลั่นปราศจากอิออน ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มล.

5. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite, NaOCl)

ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์

6. สารละลายออกซิไดซิ่ง (oxidizing solution)

ผสมสารละลายอัลคาไลน์ 100 มล. กับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 25 มล. เข้าด้วยกัน สารละลายนี้จะเตรียมเมื่อต้องการใช้ในแต่ครั้งและเก็บไว้ในขวดที่บดแสงปิดฝาให้สนิท

7. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเข้มข้น

ละลาย  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.2359 ก. ในน้ำกลั่นปราศจากอิออน ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มล. ได้สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเข้มข้น 50 มก. $\text{NH}_3$  -N/ล. ดูดสารละลายมา 10 มล. ผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มล. จะได้สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเข้มข้น 5 มก. $\text{NH}_3$  -N/ล. ซึ่งนำสารละลายมาตรฐานนี้ไปเจือจางความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ ต่อไป

8. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเข้มข้น 5 มก.  $\text{NH}_3$  -N/ล. มา 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 มล. ลงใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. สารละลายนี้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มก.  $\text{NH}_3$  -N/ล.

วิธีการ

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C 10 มล. ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 50 มล.

2. เติมสารละลายฟีนอล 0.4 มล. เขย่าให้ผสมกัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมไนโตรพริสไซด์ 0.4 มล. เขย่าให้ผสมกัน

3. เติมสารออกซิไดซิ่ง 1 มล. เขย่าให้ผสมกันทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชม. จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

4. blank และสารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

5. การหาความเข้มข้นของแอมโมเนียรวม โดยการเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียรวมกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากน้ำตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน ก็จะทราบความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมในน้ำตัวอย่างนั้น



## 2.2 ไนโตรท์ (Strickland and Parsons, 1972)

### สารเคมี

#### 1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide; $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$ )

ละลายซัลฟานิลาไมด์ 5 ก. ในกรดเกลือเจือจาง (กรดเกลือ 50 มล. ในน้ำกลั่น 300 มล.) เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มล. (เก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก)

#### 2. สารละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride

ละลาย NED 0.50 ก. ในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดแก้วสีชา (ถ้าสารละลายมีสีชาต้องเตรียมใหม่)

#### 3. สารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น

ละลาย  $\text{NaNO}_2$  0.2464 ก. ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มล. ได้สารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น 50 มก. $\text{NO}_2\text{-N/ล.}$  (สามารถเก็บไว้ได้นานด้วยการเติมคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 2 มล.) แล้วดูดสารละลายนี้มา 10 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. จะได้สารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น 5 มก. $\text{NO}_2\text{-N/ล.}$  จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานนี้ไปเจือจางความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ต่อไป

#### 4. สารละลายมาตรฐานไนโตรท์เจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น 5 มก. $\text{NO}_2\text{-N/ล.}$  มา 0, 0.1, 0.2, 1.0, 2.0 และ 10 มล. ใส่ใน Volumetric flask เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มล. สารละลายมีความเข้มข้นมาตรฐานเท่ากับ 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 มก. $\text{NO}_2\text{-N/ล.}$

### วิธีการ

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C ปริมาตร 10 มล. ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 50 มล.

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 0.2 มล. ผสมให้เข้ากัน เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา 2-8 นาที เติมสารละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 0.2 มล. ผสมให้เข้ากันแล้ววัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร ภายใน 2 ชม.

3. Blank และสารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

4. การหาความเข้มข้นของไนโตรท์ โดยการเขียนเส้นกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรท์กับค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำค่า

การดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากน้ำตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน ก็จะทราบความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำตัวอย่างนั้น

### 2.3 ไนเตรท (Strickland and Parsons, 1972)

#### สารเคมี

#### 1. สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ 125 ก. ในน้ำกลั่น 500 มล.

#### 2. สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง

เจือจางสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 50 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 2,000 มล.

#### 3. แคดเมียม – คอปเปอร์ ฟิลลิ่ง (cadmium – copper fillings)

- ใช้โลหะแคดเมียมที่มีขนาด 0.5 มม.

- ซึ่งโลหะแคดเมียม 100 ก. ล้างด้วยกรดเกลือ (HCL) 5% 300 มล. จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น (200 – 300 มล./ครั้ง) จนน้ำใสและค่าความเป็นกรด – ด่างมากกว่า 5 เทน้ำทิ้งให้แห้งแล้วเคลือบด้วยสารละลาย copper sulphate pentahydrate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 2% แล้วกวนด้วยแท่งแก้วจนสีฟ้าของสารละลายจางลงหรือหมดไป

- อุดก้นคอลัมน์ในด้วยใยแก้ว (glass wool) แล้วเติมสารละลาย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เจือจางให้เต็มคอลัมน์

- บรรจุผง cadmium-copper ลงให้เต็มคอลัมน์ ซึ่งมีความยาวประมาณ 30 ซม. ล้างคอลัมน์  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เจือจาง โดยมีอัตราการไหลประมาณ 100 มล./8-12 นาที ถ้าอัตราการไหลมากกว่า 100 มล./8 นาที ต้องบังคับอัตราการไหลในช่วงเปิดปิดด้านคอลัมน์ให้ช้าลง และถ้าอัตราการไหลช้ากว่า 100 มล./8 นาที แสดงว่าผง cadmium-copper มีขนาดเล็กกว่า 0.5 มม. หรือบรรจุแน่นมากเกินไป ควรจะเปลี่ยนหรือเอาผง cadmium-copper ออกบ้าง แล้วอุดด้านบนของคอลัมน์ด้วยใยแก้ว

- ต้องเก็บรักษาคอลัมน์ด้วยสารละลาย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เจือจาง โดยเติมสารละลาย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เจือจางให้เต็มคอลัมน์ ในกรณีที่สงสัยว่าประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง ให้นำ cadmium-copper ล้างด้วย HCl 5% แล้วเคลือบใหม่ตามวิธีข้างต้น

#### 4. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide; $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$ )

การเตรียมเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาไนโตรเจนในน้ำ

5. สารละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride

การเตรียมเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาไนโตรเจนในน้ำ

6. สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น

ละลาย  $\text{KNO}_3$  0.3609 ก. ด้วยน้ำกลั่น ปริมาตรจนครบ 1,000 มล. จะได้สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 50 มก. $\text{NO}_3\text{-N/ล.}$  แล้วดูดสารละลายนี้มา 10 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาตรจนครบ 100 มล. จะได้สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 มก. $\text{NO}_3\text{-N/ล.}$  นำสารละลายมาตรฐานนี้ไปเจือจางความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ต่อไป

7. สารละลายมาตรฐานไนเตรทเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 มก. $\text{NO}_3\text{-N/ล.}$  มา 0, 0.1, 0.2, 1.0, 2.0 และ 10 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 มก. $\text{NO}_3\text{-N/ล.}$

วิธีการ

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษ GF/C 50 มล. ใส่ลงในฟลasks ขนาด 250 มล. เติมสารละลาย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เข้มข้น 1 มล. ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำในคอฉลิมน์
2. นำตัวอย่างที่ผ่านคอฉลิมน์ 40 มล. แรกเททิ้ง รองรับน้ำตัวอย่างที่เหลือ 10 มล.
3. นำน้ำตัวอย่างที่รองรับครั้งหลัง 10 มล. ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาเกลียวปิด เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ 0.2 มล. ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 2-8 นาที
4. เติมสารละลาย N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 0.2 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร ภายใน 2 ซม.

5. blank และสารละลายมาตรฐานเจือจางทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

6. หาค่าความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำตัวอย่าง โดยสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรทกับค่าการดูดกลืนแสง โดยนำค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรอง หักออกจากความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอฉลิมน์ ก็จะทราบค่าความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำตัวอย่างนั้น

## 2.4 ออร์โธฟอสเฟต (Strickland and Parsons, 1972)

### สารเคมี

1. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )  
ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 15 ก. ในน้ำกลั่น 500 มล.
2. สารละลายกรดซัลฟูริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )  
ตวงกรดซัลฟูริกเข้มข้น 140 มล. ใส่น้ำกลั่น 900 มล. (ตั้งไว้ให้เย็นเก็บไว้ในขวดแก้ว)
3. สารละลายกรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid)  
ละลายกรดแอสคอร์บิก 27 ก. ในน้ำกลั่น 500 มล. (เก็บในขวดพลาสติก และแช่แข็งไว้)
4. สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาร์เทรต ( $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ )  
ละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาร์เทรต 0.34 ก. ในน้ำกลั่น 250 มล.
5. สารผสม  
ผสมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 100 มล. สารละลายกรดซัลฟูริก 250 มล. สารละลายกรดแอสคอร์บิก 100 มล. และสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาร์เทรต 50 มล. (เก็บได้ไม่เกิน 6 ชม. หลังผสม)
6. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น  
ละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2194 ก. ด้วยน้ำกลั่น ปริมาตรจนครบ 1,000 มล. (ใส่คลอโรฟอร์ม 1 มล. สามารถเก็บได้นาน 6 เดือน) ได้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 50 มก. $\text{PO}_4\text{-P/ล.}$  แล้วดูดสารละลายมา 10 มล. เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 5 มก. $\text{PO}_4\text{-P/ล.}$  ซึ่งนำสารละลายมาตรฐานนี้ไปเจือจางความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ต่อไป
7. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเจือจาง  
ดูดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 5 มก. $\text{PO}_4\text{-P/ล.}$  มา 0, 0.1, 0.2, 1.0, 2.0 และ 10 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100มล. จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 มก. $\text{PO}_4\text{-P/ล.}$

### วิธีการ

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C 10 มล. ใสในหลอดแก้วทดลอง เติมสารผสม 1 มล. เขย่าให้ผสมเข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที (ไม่เกิน 3 ชม.)

2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร

3. blank และสารละลายมาตรฐานเจือจางทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

4. การหาความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟต โดยการเขียนเส้นกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานออร์โทฟอสเฟตกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากน้ำตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน ก็จะทราบความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟตในน้ำตัวอย่างนั้น

## 2.5 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (APHA *et al.*, 1976)

### สารเคมี

1. สารละลาย manganese sulfate

ละลาย  $MnSO_4 \cdot 2H_2O$  400 ก. ด้วยน้ำกลั่น กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1 ล.

2. สารละลาย alkali-iodide-azide (AIA)

ละลาย NaOH 500 ก. และ NaI 135 ก. ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ล. แล้วละลาย  $NaN_3$  10 ก. ในน้ำกลั่น 40 มล. แล้วนำไปผสมกับสารละลายที่เตรียมไว้ก่อนหน้า

3. น้ำแป้ง

ละลาย soluble starch 2 ก. และ salicylic acid 0.2 ก. ด้วยน้ำกลั่น 100 มล. ต้มจนสารละลายใส

4. สารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulphate ( $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ) 0.025 N

ละลาย  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$  6.205 ก. และ NaOH 0.4 ก. ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ล.

5. สารละลาย potassium bi-iodate ( $KH(IO_3)_2$ ) 0.025 N

ละลาย  $KH(IO_3)_2$  0.8124 ก. ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ล.

6. การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $Na_2S_2O_3$  โดยละลาย potassium iodide (KI) 2 ก. ด้วยน้ำกลั่น 100 มล. โดยใส่ในฟลาสก์ เติม  $H_2SO_4$  เข้มข้น 3 หยด แล้วเติม  $KH(IO_3)_2$  20 มล. เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มล. แล้วนำไปไตเตรทกับ sodium thiosulphate จนสีจางจากนั้นเติมน้ำแป้ง 2-3 หยด แล้วไตเตรทต่อจนสารละลายใสไม่มีสี

ซึ่งควรใช้ 20 มล. จะได้ความเข้มข้นของ  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.025 N ซึ่ง 1 มล. ของสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.025 N เท่ากับปริมาณออกซิเจน 1 มก./ล

#### วิธีการ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนโดยนำน้ำตัวอย่างที่บรรจุในขวดบีโอดีขนาด 300 มล. มาเติมสารละลาย  $\text{MnSO}_4$  2 มล. และสารละลาย AIA 2 มล. จากนั้นปิดฝาอย่าให้เกิดฟองอากาศเขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งให้ตกตะกอน

2. เติมกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น 2 มล. ปิดฝาเขย่าให้เข้ากันเพื่อให้กรดละลายตะกอนให้หมด

3. ตวงน้ำตัวอย่างจากขวดบีโอดี 200 มล. ไตเตรทกับสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.025 N จนสารละลายเป็นสีเหลืองจากนั้นเติมน้ำแบ่ง 8 หยด แล้วไตเตรทต่อจนสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี แสดงถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

#### การคำนวณ

น้ำตัวอย่าง 200 มล. ใช้สาร 1 มล. ของสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.025 N เท่ากับปริมาณออกซิเจน 1 มก./ล

## 2.6 ความเป็นด่าง (Alkalinity) (APHA *et al.*, 1976)

### สารเคมี

1. น้ำที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ ให้เตรียมสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการหาความเป็นด่างของน้ำด้วยน้ำกลั่นที่มีพีเอชสูงกว่า 6 ในกรณีที่มีพีเอชต่ำกว่านี้ให้ต้มให้เดือดประมาณ 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง อาจใช้ deionized water ซึ่งมีค่าความนำไฟฟ้าน้อยกว่า 2 ไมโครโมห์ต่อ ซม. และพีเอชสูงกว่า 6 แทนได้

2. ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 กรัม ใน 95%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  500 มล. เติมน้ำกลั่นอีก 500 มล.

3. เมทิลออเรนจอินดิเคเตอร์ ละลายผงเมทิลออเรนจ์ 500 มก. ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล.

4. สารละลายมาตรฐานกรดกำมะถันหรือกรดเกลือ 0.02 นอร์มัล

ก. สารละลายสต็อก 0.1 นอร์มัล ดูดกรดเกลือเข้มข้น (HCl) เข้มข้น 8.3 มล. หรือ กรดกำมะถัน ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) เข้มข้น 2.8 มล. เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มล.

ข. สารละลายมาตรฐาน 0.02 นอร์มัล นำ 200 มล. ของ 0.1 นอร์มัล สารละลายสต็อกมา แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มล. ทำการ standardize โดยใช้ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.02 นอร์มัล

5. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.02 นอร์มัล โดยการละลาย 1.060 กรัม anhydrous  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (อบที่ 140 °C ก่อน) ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มล.

6. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล ละลาย 25 กรัม  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มล.

7. อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างบรอมครีซอลกรีนกับเมทิลเรด เตรียมโดย

ก. ละลาย 20 มก. ของเกลือโซเดียมเมทิลเรด และ 100 มก. เกลือโซเดียมครีซอลกรีนในน้ำกลั่น 100 มล.หรือ

ข. ละลาย 20 มก. เมทิลเรดและ 100 มก. บรอมครีซอลกรีนใน 100 มล. ของ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ หรือ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

#### วิธีการ

ให้เลือกปริมาตรของตัวอย่างที่ทำให้ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรทน้อยกว่า 25 มล. เพราะจะทำให้การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ที่จุดสิ้นสุดของการไตเตรทมองเห็นได้ชัด ในกรณีที่มี คลอรีนอิสระตกค้างให้กำจัดโดยเติม 0.1 นอร์มัลโซเดียมไธโอซัลเฟต 1 หยด หรือโดยการใช้ แสงอุลตราไวโอเลตทำลาย

#### 1. Phenolphthalein alkalinity

หยดฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 2 หยด ลงในตัวอย่างน้ำ 50 หรือ 100 มล. ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัลกรดกำมะถันหรือกรดเกลือ จนกระทั่งสีชมพูของน้ำหายไป

#### 2. Total alkalinity by mixed bromcresol green-methyl red indicator method

หยดอินดิเคเตอร์ 3 หยด ลงในสารละลายซึ่งได้ทำการหา phenolphthalein alkalinity แล้ว หรือให้ใช้ตัวอย่างใหม่เลย ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล กรดกำมะถันหรือกรดเกลือจนกระทั่งถึงจุดสมมูลย์ ซึ่งอินดิเคเตอร์ตัวนี้จะให้สีที่พีเอชต่าง ๆ ดังนี้

above pH 5.2, greenish blue; pH 5.0, light blue with lavender gray; pH 4.8 light pink – gray with a bluish cast; pH 4.6, light pink.

#### 3. Total alkalinity by methyl orange indicator method

หยดอินดิเคเตอร์ 2 หยด ลงในสารละลายซึ่งได้ทำการหา phenolphthalein alkalinity แล้ว หรือให้ใช้ตัวอย่างใหม่เลย ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล กรดกำมะถันหรือกรดเกลือ

จนกระทั่งสีเหลืองของน้ำเปลี่ยนไปเป็นสีส้มที่พีเอช 4.0

การคำนวณ

$$\text{phenolphthalein alkalinity} = \frac{A \times N \times 50,000}{\text{ml sample}}$$

mg/l as CaCO<sub>3</sub>

$$\text{Total alkalinity} = \frac{B \times N \times 50,000}{\text{ml sample}}$$

mg/l as CaCO<sub>3</sub>

เมื่อ A = มล. ของกรดที่ใช้ในการไตเตรทจนถึง phenolphthalein end point

B = มล. ของกรดที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่างใหม่จนถึง methyl orange end point หรือถึง bromcresol green – methyl red end point หรือ ในกรณีที่ใช้ตัวอย่างซึ่งทำการหา phenolphthalein alkalinity แล้วมาทำการไตเตรทต่อ B จะเป็น มล. ของกรดที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่างจนถึง phenolphthalein end point

N = นอร์มัลลิตีของกรด

หมายเหตุ ก. ถ้าตัวอย่างขุ่นให้ทำการกรองก่อนไตเตรท

ข. จากค่า P (phenolphthalein alkalinity) และ T (Total alkalinity) อาจคำนวณหารูปต่างๆ ของความเป็นต่างในน้ำตัวอย่างได้จากตารางที่ ก-1

**ตารางที่ ก-1** ความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอล์ฟทาไลน์อัลคาไลน์ตีและอัลคาไลน์ตีรวมกับรูปต่างๆ ของอัลคาไลน์ตีในน้ำ

Result of titration	OH <sup>-</sup> alkalinity mg/l as CaCO <sub>3</sub>	CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> alkalinity mg/l as CaCO <sub>3</sub>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> alkalinity mg/l as CaCO <sub>3</sub>
P=0	0	0	T
P<1/2T	0	2P	T-2P
P=1/2	0	2P	0
P>1/2	2P-T	2(T-P)	0
P=T	T	0	0

P = Phenolphthalein alkalinity

T = total alkalinity