

การตรวจเอกสาร

อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS)

อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี เป็นวิธีการวิเคราะห์ธาตุที่พัฒนาขึ้นโดย Alan Walsh ในปีค.ศ.1955 (แม็น อมรสิทธิ์, 2539) ซึ่งเป็นที่นิยมกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากให้ความเที่ยงตรง ความแม่นยำ และมีสภาพไวสูง สามารถใช้วิเคราะห์ธาตุต่างๆ ได้ถึง 67 ธาตุ ใช้ในงานวิเคราะห์ทางการแพทย์ ชีวเคมี และการเกษตร

อะตอมมิกแอบซอร์พชันเป็นกระบวนการที่เกิดจากการที่อะตอมอิสระ (neutral atom) ของธาตุหนึ่งธาตุใดดูดกลืนแสงเฉพาะที่ปล่อยเข้าไป เนื่องจากคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะนี้มีพลังงานเหมาะสมในการยกระดับพลังงานของอะตอมอิสระของธาตุจากสภาวะพื้น (ground state) ไปสู่สภาวะเร้า (excited state) ซึ่งเป็นอะตอมพลังงานสูง เนื่องจากธาตุแต่ละชนิดจะมีระดับพลังงานแตกต่างกันจึงมีการดูดกลืนพลังงานแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อปล่อยคลื่นแสงเฉพาะของธาตุใดธาตุหนึ่งเข้าไปในกลุ่มอะตอมอิสระแล้ว ก็จะมีเพียงอะตอมอิสระชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้นที่สามารถดูดกลืนแสงเฉพาะนั้นได้ โดยที่อะตอมอิสระธาตุอื่นไม่สามารถดูดกลืนแสงเฉพาะดังกล่าวได้ การวัดปริมาณคลื่นแสงความยาวคลื่นเฉพาะที่อะตอมของธาตุนั้นดูดเข้าไปจะสามารถทำให้หาปริมาณธาตุนั้นได้ โดยการดูดกลืนแสงของอะตอมจะแปรผัน โดยตรงกับความเข้มข้นของธาตุนั้นตามกฎของเบียร์

สมมุติฐานการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้จากการเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน (Working curve or Standard curve)

การที่จะทราบปริมาณของสารต้องการหา (analyte) ในสารตัวอย่างได้ จะต้องนำไปเทียบกับสารมาตรฐาน หรือเส้นกราฟสารมาตรฐาน (standard curve) โดยมีสมมุติฐานว่าพฤติกรรมทุกอย่างขององค์ประกอบของสารตัวอย่างจะคล้ายหรือเหมือนกับของสารมาตรฐาน ถ้าหากว่าพฤติกรรมทุกอย่างขององค์ประกอบของสารตัวอย่างแตกต่างไปจากของสารมาตรฐานแล้ว การอ่านค่าสารตัวอย่างจากเส้นกราฟมาตรฐานก็ไม่น่าจะถูกต้อง ทั้งนี้ก็เพราะว่าสารตัวอย่างจะประกอบไปด้วยสารที่ต้องการหา และส่วนที่เหลือ (concomitants) ส่วนที่เหลือของสารตัวอย่างนี้เองอาจเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับสารต้องการหาหรือเกิดอันตรกิริยากับพวกเดียวกันเอง หรือเกิดอันตรกิริยากับคลื่นแสง แล้วมีผลต่อกำลังสัญญาณของสารต้องการหาแตกต่างออกไปจากที่เกิดขึ้นในสารมาตรฐานก็ได้

แต่ในความเป็นจริงแล้วเมทริกซ์ (matrix = analyte + concomitants) ของสารตัวอย่างย่อมแตกต่างไปจากเมทริกซ์ของสารมาตรฐาน ดังนั้นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์เชิงปริมาณซึ่งน่าจะให้ค่าถูกต้องมากที่สุด ก็น่าจะเป็นเทคนิคที่ทำให้เมทริกซ์ของสารตัวอย่างคล้าย หรือเหมือนกับสารมาตรฐานมากที่สุด

การแทรกสอด (Interference)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี AAS นั้นถึงแม้ว่าจะมีความเฉพาะเจาะจงสูง แต่ก็อาจเกิดการแทรกสอดของสัญญาณ ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ การแทรกสอดสามารถจัดกลุ่มได้ดังนี้

1. การแทรกสอดเชิงเคมี (Chemical interference) เป็นการแทรกสอดที่เกิดจากการที่มีธาตุอื่นในสารละลายสามารถรวมตัวได้ดีกับธาตุที่ต้องการหา ตัวอย่างเช่นการหาแคลเซียม ถ้าหากว่ามีพวกแอนไอออน (anion) ต่างๆ ได้แก่ ฟอสเฟต ซิลิเกต อะลูมิเนต จะทำให้เกิดการรวมตัวเป็นแคลเซียมฟอสเฟต แคลเซียมซิลิเกต แคลเซียมอะลูมิเนต ซึ่งระเหยเป็นไอได้ยากในเปลวไฟ air-acetylene จึงมีอะตอมแคลเซียมอิสระน้อย ทำให้วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมได้น้อยกว่าปกติ

Dickson and Johnson (1966) ศึกษาผลการแทรกสอดเชิงเคมีอันเกิดจากแอนไอออนต่างๆ ในการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมด้วยอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีผลจากน้อยไปหามากตามลำดับดังนี้ เปอร์คลอเรต คลอไรด์ ไนเตรต ซัลเฟต ฟอสเฟต และซิลิเกต ซึ่งไนเตรต จะมีผลทำให้ค่าแอบซอร์พชันลดลง 10-20 % ซัลเฟตและฟอสเฟต มีผลทำให้ค่าแอบซอร์พชันลดลง 30-60 %

Christain and Feldman (1970) อ้างถึงการศึกษานี้ของ Monder and Sells ซึ่งพบว่ากรดไฮโดรคลอริก ไนตริก ฟอสฟอริก และไตรคลอโรอะซิติก จะยับยั้งการดูดกลืนแสงของแคลเซียมอย่างมาก

วิธีแก้ไขทำได้โดย

- เติมนิวเคลียสปลดปล่อย (releasing agent) เช่น สทอรอนเซียม แลนทานัม ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับฟอสเฟต ซิลิเกต และอะลูมิเนตได้ดีกว่าแคลเซียม ทำให้แคลเซียมอะตอมถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น
- เติมนิวเคลียสป้องกัน (protective agent) ได้แก่ EDTA, 8 hydroxyquinoline ซึ่งจะไปรวมกับแคลเซียมเป็นสารประกอบที่กลายเป็นไอได้ง่าย

- ใช้เปลวไฟความร้อนสูง (high temperature flame) เนื่องจากพลังงานของเปลวไฟ air-acetylene มีไม่สูงมากพอที่จะทำให้โมเลกุลของแคลเซียมฟอสเฟตแตกตัวออกเป็นอะตอมอิสระเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นการใช้เปลวไฟ nitrous oxide-acetylene ซึ่งมีพลังงานสูงกว่าจะขจัดปัญหานี้ได้

2. การแทรกสอดจากการแตกตัวเป็นไอออน (Ionization interference) เป็นการแทรกสอดที่เกิดจากการกระตุ้นให้อะตอมอิสระกลายเป็นไอออน ซึ่งจะให้มีจำนวนอะตอมอิสระของธาตุในเปลวไฟลดลงกว่าปกติ มีผลทำให้ความไวการตรวจวัดลดลงตาม



จะเห็นว่าธาตุที่มีค่าพลังงานการแตกตัวเป็นไอออน (ionization potential energy) ต่ำ เช่น ธาตุกลุ่ม alkali metal (IA) และ alkaline earth (IIA) จะมีปัญหาเมื่อใช้เปลวไฟ air-acetylene หรือ nitrous oxide-acetylene

วิธีแก้ไขทำได้โดย

- เติมสารกดการแตกตัวเป็นไอออน (ionization suppressor) ซึ่งเป็นธาตุที่มีค่าพลังงานการแตกตัวเป็นไอออนต่ำกว่าธาตุที่ต้องการหา เช่น ในการหาธาตุแคลเซียมโดยใช้เปลวไฟ air-acetylene หรือธาตุแบเรียมโดยใช้เปลวไฟ nitrous oxide-acetylene การเติมธาตุโพแทสเซียม รูบิเดียม หรือซีเซียมลงไปจำนวนมากพอ จะทำให้ลดการเกิดไอออนของธาตุแคลเซียมและแบเรียมได้ ทั้งนี้เพราะว่าธาตุที่เติมลงไปจะแตกตัวเป็นไอออนได้ดีกว่า จึงทำให้มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่มากมายในเปลวไฟ ทำให้ลดการแตกตัวเป็นไอออนของแคลเซียมและแบเรียมลง

- ใช้เปลวไฟอุณหภูมิต่ำ (low temperature flame) เพื่อลดการกระตุ้นให้อะตอมอิสระกลายเป็นไอออน จึงควรใช้เปลวไฟอุณหภูมิต่ำ เช่น air-propane หรือ air-hydrogen สำหรับธาตุกลุ่ม IA และ IIA

3. การแทรกสอดเชิงกายภาพ (Physical interference) เป็นการแทรกสอดเชิงกายภาพอันเกิดจากความแตกต่างของการระเหย (volatility) ความหนืด (viscosity) ความหนาแน่น (density) แรงตึงผิว (surface tension) ระหว่างสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน ซึ่งมีผลทำให้อัตราไหลเข้าสู่เครื่องพ่นหมอก (nebulizer) แตกต่างกัน ทำให้จำนวนอะตอมอิสระในเปลวไฟของสารตัวอย่างไม่สัมพันธ์กับจำนวนอะตอมอิสระของสารมาตรฐานที่ใช้ทำเส้นกราฟมาตรฐาน ความแตกต่างในสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้น กล่าวโดยสรุปก็คือเนื่องจากเมทริกซ์ของสาร

ต่างกัน ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์ของสารตัวอย่างกับเมทริกซ์สารมาตรฐานนี้ ทำให้เกิดการแทรกสอด ซึ่งแบ่งออกได้ 2 แบบกล่าวคือ

3.1 การแทรกสอดเชิงสเปกตรัม (Spectral interference) เป็นการแทรกสอดที่มีผลรบกวนความเที่ยงตรงของการวัดค่าแอมพลิจูด (absorbance) ได้แก่

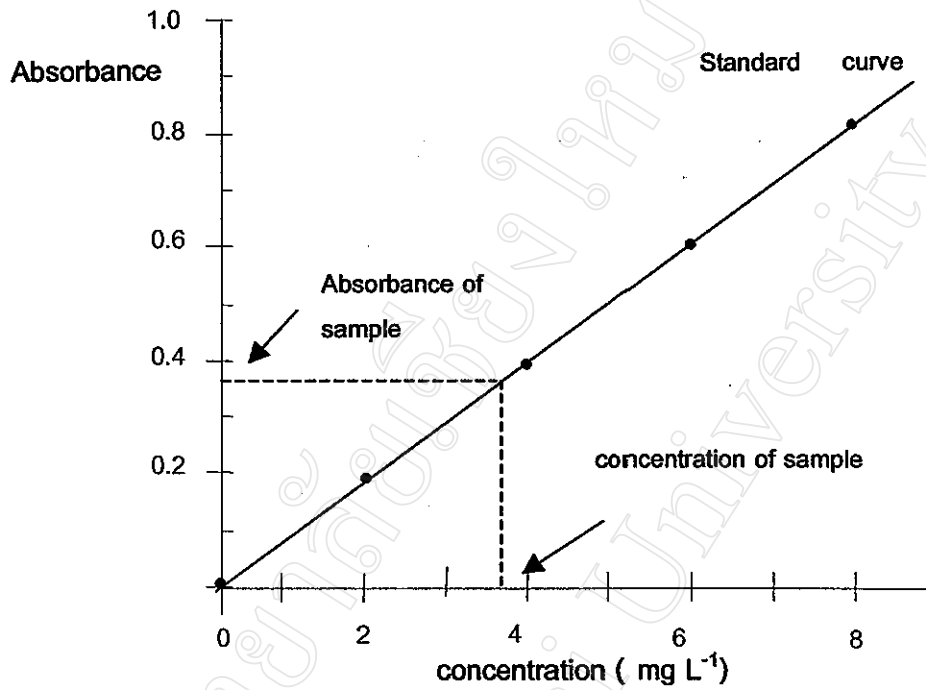
1) เป็นการแทรกสอดเนื่องจาก มีธาตุที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่มีความยาวคลื่นใกล้กับธาตุที่ต้องการหา ซึ่งใน AAS นั้นถ้าความยาวคลื่นแสงใกล้กันกว่า 0.01 nm จะยากต่อการจำแนกของดีเทคเตอร์ ตัวอย่างเช่น vanadium 308.211 nm และ aluminium 308.215 nm สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาในการวิเคราะห์ได้โดยใช้ aluminium 309.27 nm แทน

2) การแทรกสอดเกิดจากโมเลกุล (molecule) กลุ่มอะตอม (radicals) ที่มีไอโซโทปอิสระของธาตุที่ต้องการหา รวมดูดกลืนแสงเฉพาะหรืออาจเกิดจากอนุภาคสารอื่นในเปลวไฟ อันเกิดจากการระเหยแห่งสารตัวอย่างกระเจิงแสง (scattering) หรือดูดกลืนแสง ซึ่งเรียกรวมว่าการดูดกลืนแสงของแบกกราวด์ (background or nonspecific adsorption) การดูดกลืนแสงประเภทนี้จะเกิดขึ้นมากเมื่อคลื่นแสงเฉพาะมีความยาวช่วงคลื่นสั้น วิศวกรผู้ออกแบบได้พัฒนาเทคนิคแก้ไขการแทรกสอดที่เกิดขึ้นโดยวิธีนี้ไว้หลายเทคนิคด้วยกัน ตามแต่ละรุ่นของเครื่อง AAS ได้แก่ 1) continuum source background Correction 2) Zeeman background correction และ 3) Smith-Hieftje background correction

Tahvonon and Kumpulainen (1995) ได้วิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในผักและเบอร์รี่ด้วยอะตอมมิคแอมพลิจูดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยใช้เทคนิค Zeeman background correction ในการแก้ไขการแทรกสอดจากการดูดกลืนแสงของแบกกราวด์ดังกล่าว

3.2 การแทรกสอดไม่ใช่เชิงสเปกตรัม (Nonspectral interference) เป็นการแทรกสอดอันเกิดจากสมบัติทางกายภาพของสารตัวอย่างแตกต่างไปจากสารมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบ นั่นคือเมทริกซ์ของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานแตกต่างกัน ทำให้ผลการวิเคราะห์ไม่ถูกต้อง ซึ่งเทคนิคแก้ไขมีดังนี้

1) **เมทริกซ์แมตชิ่ง (Matrix matching)** คือการทำส่วนประกอบหลักของสารมาตรฐานให้คล้ายกับสารตัวอย่างให้มากที่สุดคือ สารสกัดและสารอื่นทุกชนิดที่ใช้ในการสกัดสารตัวอย่างจะต้องเติมลงไปในการมาตรฐานในปริมาณเท่ากับที่มีในสารตัวอย่างที่สกัดได้ แล้วจึงวัดค่าแอมพลิจูดของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำผลมาเขียนกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมพลิจูด (A) กับความเข้มข้น (C) ของสารมาตรฐาน จะได้เส้นกราฟมาตรฐาน จากนั้นวัดค่าแอมพลิจูดของสารตัวอย่างแล้วอ่านค่าความเข้มข้นจากเส้นกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 การหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยเทคนิคเมทริกซ์แมทซิง จากเส้นกราฟมาตรฐาน

David (1960) ได้วิเคราะห์ปริมาณ โหเตียม โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในดิน ด้วยอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เทคนิคเมทริกซ์แมทซิง และพบว่ามีการแทรกสอดเชิงเคมีอันเกิดจากอะลูมิเนียม ฟอสเฟต ซิลิเกต และซัลเฟต โดยอะลูมิเนียมจะทำปฏิกิริยากับแคลเซียมเหมือนกันเป็นแอนไอออนชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดเกลือของแคลเซียม เช่น แคลเซียมอะลูมิเนต (Christain and Feldman, 1970) สามารถแก้ไขได้โดยการเติมสทรอนเซียมหรือแลนทานัม ซึ่งพบว่าสทรอนเซียมมีประสิทธิภาพในการแก้ไขการแทรกสอดดังกล่าวมากกว่าแลนทานัม

Dickson and Johnson (1966) ได้ศึกษาการแทรกสอดที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมด้วยอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่าการแทรกสอดเกิดจากผลของเมทริกซ์ ซึ่งเป็นการแทรกสอดเชิงเคมีอันเนื่องมาจากอะลูมิเนียมและซัลเฟตซึ่งจะรวมตัวกับแคลเซียมเกิดสารประกอบที่ระเหยเป็นไอได้ยาก ทำให้แคลเซียมไม่สามารถแตกตัวเป็นอะตอมอิสระได้ การแทรกสอดดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการเจือจางตัวอย่างลงไปอยู่ในช่วงที่เหมาะสมคือ 0.025 - 0.300 mM การเติมสารปลดปล่อย ได้แก่ สทรอนเซียม หรือแลนทานัม ซึ่งวิธีการดังกล่าวใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเมทริกซ์แมทซิง

2) **สแตนดาร์ดแอดดิชัน (Standard addition)** ในกรณีที่สารตัวอย่างมีความเข้มข้นของเกลือ (ไอออน) อยู่สูง องค์ประกอบหลักของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานยังมีความแตกต่างกันมาก การใช้เทคนิคเมทริกซ์แมทริงนั้นยังไม่สามารถทำให้เมทริกซ์ของสารมาตรฐานคล้ายหรือเหมือนกับของสารตัวอย่างได้ ดังนั้นจึงต้องใช้เทคนิคสแตนดาร์ดแอดดิชัน ซึ่งทำให้เมทริกซ์ของสารมาตรฐานกับสารตัวอย่างเหมือนกัน กระทำได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานปริมาณต่าง ๆ กันลงในสารตัวอย่างแต่ละชุด แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากัน นำสารละลายชุดที่ได้ไปอ่านค่าแอมป์เพอเรนต์ เนื่องจากสแตนดาร์ดแอดดิชันมีสมมุติฐานว่าค่าแอมป์เพอเรนต์ที่อ่านต้องมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของสาร (C) , $R_n = kC$ ดังนั้น ค่าที่อ่านได้จะเป็นสมการเส้นตรงทางทฤษฎี (Bader, 1980) ดังนี้

$$R_n = k \left(\frac{V_x C_x}{V_t} + \frac{V_s C_s}{V_t} \right)$$

$$R_n = \frac{kV_x C_x}{V_t} + \frac{kV_s C_s}{V_t} \dots \dots \dots (1)$$

โดยที่ C_x คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ใช้

C_s คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

V_x คือ ปริมาตรคงที่ของสารตัวอย่างที่ใช้

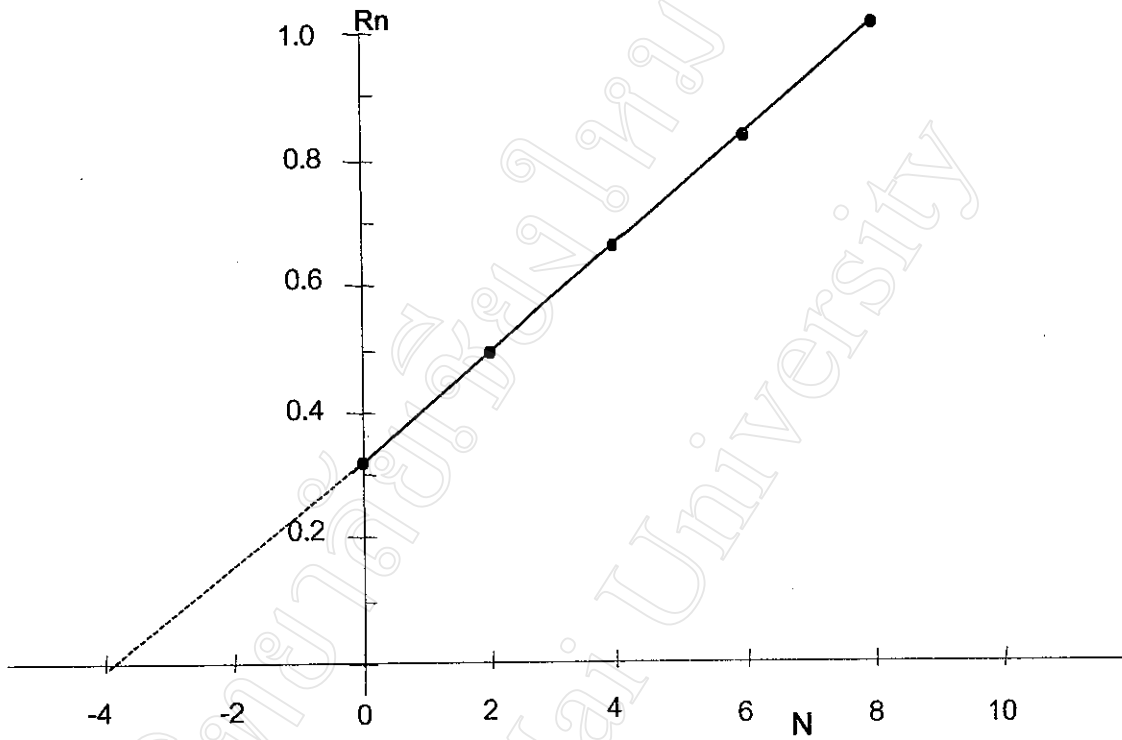
V_s คือ ปริมาตรคงที่ของสารมาตรฐานที่ใช้

V_t คือ ปริมาตรทั้งหมด

N คือ เลขจำนวนเต็มตั้งแต่ 0, 1, 2, ...

R_n คือ ค่าที่อ่านได้แต่ละค่าที่ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นตามจำนวน N

Bader (1980) เขียนกราฟระหว่าง R_n กับ N จะได้กราฟดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า R_n และ N

จากการวิเคราะห์จริงจะได้สมการของกราฟรูปที่ 2 คือ

$$R_n = mN + b$$

โดยที่ $m = \text{slope}$, $b = y\text{-intercept}$

$$m = \frac{kV_s C_s}{V_t} \dots \dots \dots (2)$$

$$b = \frac{kV_x C_x}{V_t} \dots \dots \dots (3)$$

จากสมการ(2) จะได้
$$V_t = \frac{kV_s C_s}{m} \dots\dots\dots(4)$$

จากสมการ(3)
$$C_x = \frac{bV_t}{kV_x} \dots\dots\dots(5)$$

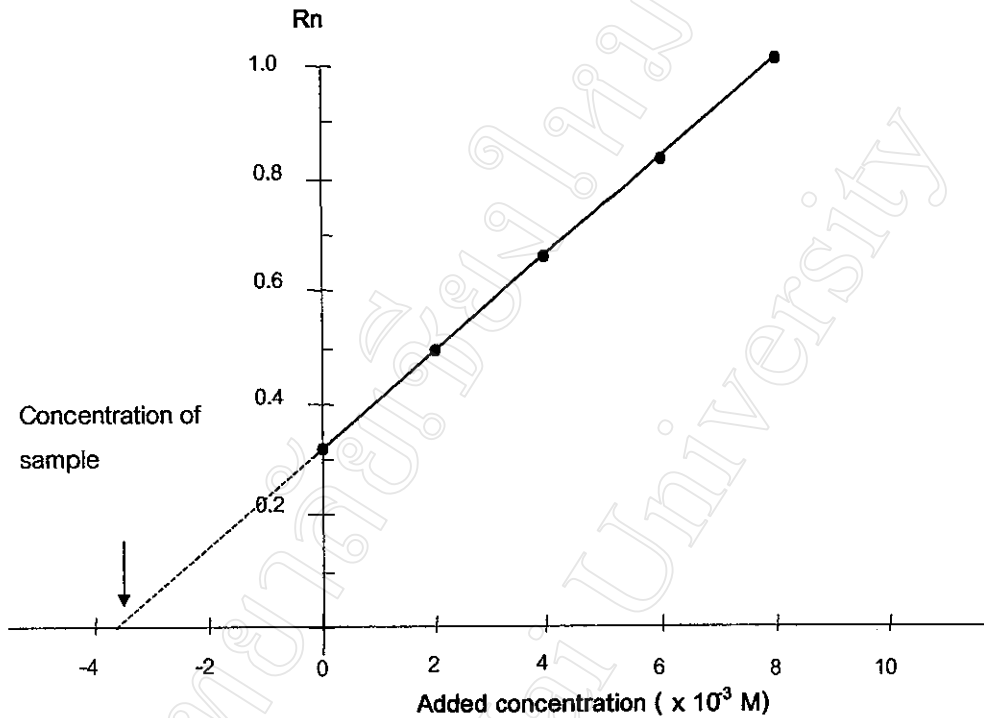
แทนค่า V_t ในสมการ(5)
$$C_x = \frac{bkV_s C_s}{mkV_x}$$

$$C_x = \frac{bV_s C_s}{mV_x} \dots\dots\dots(6)$$

จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (C_x) ดังสมการ (6)

การเขียนกราฟของ Bader (1980) ที่ทำให้ได้ค่าความชัน (slope, m) และค่าจุดตัดที่แกน y (y-intercept) ยังไม่สามารถให้คำตอบเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เมื่อต้องการหาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง จะต้องนำค่า V_s , C_s และ V_x ไปแทนค่าร่วมกับค่า slope และ y-intercept ในสมการ (6)

Braun (1987) ยกตัวอย่างการคำนวณการทำสแตนคาร์ดแอคดิชันที่มีการใส่ตัวอย่าง 20 mL ลงไปในขวดปริมาตร 25 mL จำนวน 5 ใบ แล้วเติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 5.00×10^{-3} M ลงไป 0, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 mL ในแต่ละขวด แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 25 mL จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของสารละลายที่เติมลงไปต่อปริมาตรทั้งหมด แล้วนำไปเขียนกราฟระหว่างค่าแอบซอร์ปแวนซ์และความเข้มข้นของสารละลายต่อปริมาตรทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง R_n กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม

จากนั้นหาจุดตัดของเส้นกราฟที่แกน x แล้วจึงคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างโดยการนำค่าจุดตัดที่แกน x คูณด้วยปริมาตรทั้งหมด (25 mL)หารด้วยปริมาตรที่ใช้ (20 mL) ซึ่งจะเห็นว่า Braun (1987) ใช้วิธีเขียนกราฟแล้วทำให้ได้ค่า x-intercept ที่ยังไม่ใช่ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างจริง ต้องมีการคูณและหารค่า x-intercept กับค่าบางค่าเพื่อให้ได้ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างจริง คล้ายกับที่ Bader (1980) ทำ แต่แตกต่างกันตรงที่ Bader (1980) มีสมการทางคณิตศาสตร์อธิบายกำกับชัดเจน แต่ Braun (1987) ไม่มีสมการทางคณิตศาสตร์อธิบายที่มา

การเขียนกราฟของ Braun (1987) สามารถใช้สมการที่ 1 ของ Bader (1980) อธิบายได้ดังต่อไปนี้คือ Braun (1987) เขียนกราฟระหว่าง R_n และ $NV_s C_s / V_t$ ในสมการที่ 1 ดังนั้น

$$\text{Slope} = k \dots\dots\dots (7)$$

$$y - \text{intercept} = \frac{kV_x C_x}{V_t} \dots\dots\dots(8)$$

แทนค่า k ลงในสมการ(8) จะได้

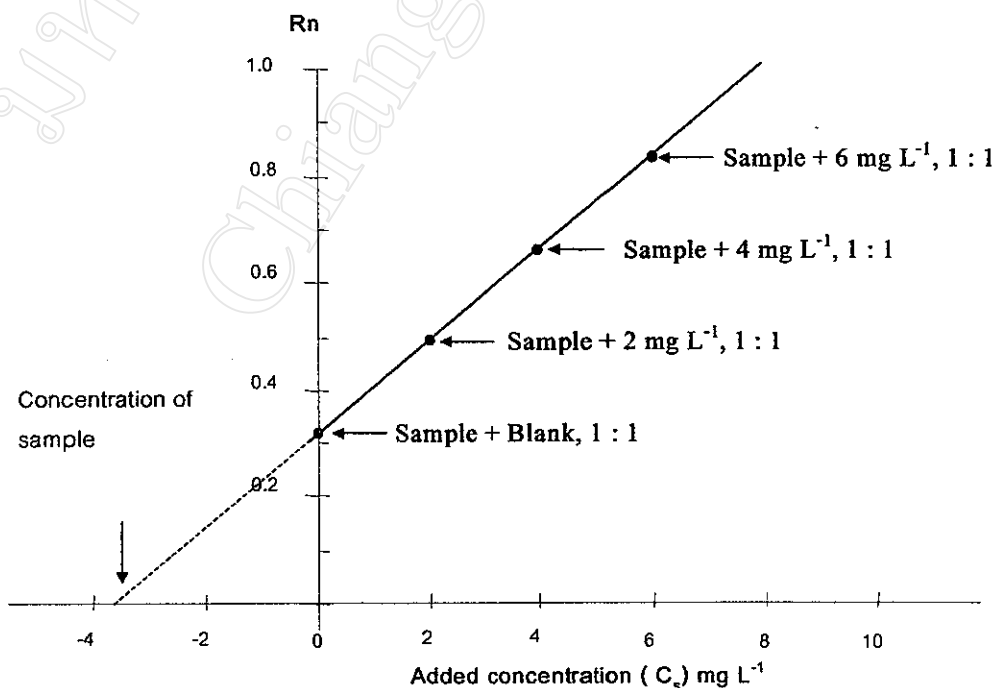
$$y - \text{intercept} = \frac{\text{slope } V_x C_x}{V_t}$$

เพราะฉะนั้น

$$C_x = \frac{y - \text{intercept}}{\text{slope}} \frac{V_t}{V_x}$$

$$C_x = x - \text{intercept} \frac{V_t}{V_x}$$

The Perkin Elmer Corporation (1982) ใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันลงไปปริมาตรที่เท่ากับสารตัวอย่าง นำสารละลายชุดที่ได้ไปอ่านค่าแอบซอร์พแบนซ์ จากนั้นนำไปเขียนกราฟระหว่างค่าแอบซอร์พแบนซ์กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอบซอร์พแบนซ์กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม

จากสมการ (1) ของ Bader (1980), The Perkin Elmer Corporation (1982) เขียนกราฟแสดง ความสัมพันธ์ระหว่างค่า R_n กับ NC_s ดังนั้น จะได้

$$\text{slope} = \frac{kV_s}{V_t} \dots\dots\dots(9)$$

$$\text{y - intercept} = \frac{kV_x C_x}{V_t} \dots\dots\dots(10)$$

จากสมการ (9) $k = \frac{\text{slope } V_t}{V_s} \dots\dots\dots(11)$

แทนค่า k ในสมการ (10)

$$\text{y - intercept} = \frac{\text{slope } V_t V_x C_x}{V_s V_t} \dots\dots\dots(12)$$

$$C_x = \frac{\text{y - intercept } V_s}{\text{slope } V_x}$$

เนื่องจาก $V_x = V_s$

เพราะฉะนั้น $C_x = \frac{\text{y - intercept}}{\text{slope}} \dots\dots\dots(13)$

จะได้ $C_x = \text{x - intercept}$

จะเห็นว่าวิธีการของ The Perkin Elmer Corporation (1982) มีข้อดีที่เมื่อเขียนกราฟแล้วจะ ได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง โดยตรงจากจุดตัดของเส้นกราฟที่แกน x

การศึกษาการแทรกสอดที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมด้วยอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดย Dickson and Johnson (1966) พบว่าเกิดจากผลของเมทริกซ์ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการแทรกสอดเชิงกายภาพอันเนื่องมาจากความหนาแน่น หรือความหนืดของสารตัวอย่าง การเปล่งแสงและการกระเจิงของแสงโดยอนุภาคของเกลือในเปลวไฟ และการแทรกสอดเชิงเคมีอันเกิดจากการรวมตัวกันระหว่างแคลเซียมกับอะลูมิเนียมหรือซัลเฟต เกิดเป็นสารประกอบที่กลายเป็นไอได้ยาก การแก้ไขการแทรกสอดดังกล่าวกระทำได้โดย 1) การเจือจางตัวอย่างลงไปให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม คือ 0.025 – 0.300 mM 2) การเติมสารปลดปล่อยลงไป ซึ่งได้แก่ สทรอนเซียมหรือแลนทานัม และ 3) ใช้เทคนิคสแตนด์การ์ดแอดดิชัน ซึ่งจะสามารถกำจัดการแทรกสอดที่ยังคงเหลืออยู่จาก 2 วิธีข้างต้น