การวิเคราะห์เส้นใยขนสัตว์โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำ Pyrolysis gas chromatography

บทคัดย่อ

วิธีการใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำโครมาโตกราฟฟี ของแกส ได้ถูกนำมาในการจำแนกตัวอย่างเส้นใยขนสัตว์ที่มีขนาดเล็กมาก ตัวอย่างขนสัตว์จะถูกนำไปผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นนำไป pyrolysis ใน Curie-point pyrolysis และนำไปทดสอบในเครื่อง กาซโครมาโตกราฟ หรือ กาซโครมาโตกราฟ แมส สเปคโตรมิตรี เพื่อแยกแยะทำนายชนิดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสาร การเพิ่มสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซดาไฟ ทำให้มีผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการระเหย จาก pyrolysis เพิ่มขึ้น โดยระเหยจากกรดอะมิโน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเส้นใยโปรตีน เช่น acetaldehyde จาก alanine หรือ proline, isobutyronitrile จาก valine, 2-methylbutyronitrile จาก isoleucine, isovaleronitrile จาก leucine และ toluene จาก phenylalanine เปรียบเทียบกับวิธี PyGC ที่ไม่ใช่ตัวเร่งปฏิกริยา การใช้ด่างถูกพบว่าได้แก้ไขข้อจำกัดการตรวจสอบเส้นใยขนสัตว์ และทำให้สามารถทำการตรวจในตัวอย่างที่มีขนาดเล็กมากๆ ได้ นอกจากนี้การใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกริยายังแสดงให้เห็นในงานวิจัยชิ้นนี้ว่าสามารถนำไปใช้ในการแยกแยะดีเอ็นเอโดยใช้ความร้อน (thermally denatured) ในตัวอย่างที่มีขนาดเล็กซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ในการตรวจสอบโดยวิธีการสังเกตสัณฐานวิทยาโดยกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป หรือแม้แต่กล้องไมโครอินฟาเรด (Tourier-transform infared microspectoscopy) ยิ่งกว่านั้น งานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นถึงผลสำเร็จของการใช้ PyGC มาตรวจสอบในกลุ่มตัวอย่างโปรตีนหลายๆชนิด และแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ใช้สอยของกระบวนการวิเคราะห์โปรตีนอื่นๆ นอกเหนือจากเส้นใยขนสัตว์ โดยการใช้ program พิเศษหลายๆชนิด เพื่อที่จะสะท้อนให้เห็นถึงกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนนั้นๆ

1.บทนำ

การเก็บตัวอย่างเส้นใยสิ่งทอจากที่เกิดเหตุอาชญากรรมมาใช้เป็นหลักฐานเป็นสิ่งที่ทำกันอยู่เป็นปกติทั่วไป มันสามารถเป็นข้อมูลสำคัญในการเชื่อมโยงระหว่างผู้เสียหายและผู้ต้องหาเช่นเดียวกับการเชื่อมโยงอาชญากรรมกับเหยื่อ และ/หรือ ผู้ต้องหาอีกด้วย

นอกจากจะตรวจสอบโดยการเก็บสันฐานวิทยามาส่องตรวจโดยกล้องจุลทัศน์และการทำ Fourier-transfer โดยใช้กล้องไมโครอินฟาเรดแล้ว PyGC ก็สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการแยกแยะสิ่งทอทางนิติวิทยาศาสร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมันมีประโยชน์เมื่อวิธีอื่นๆที่กล่าวมา

ข้างต้นใช้ไม่ได้ผล ตัวอย่างที่เก็บมาจะถูกนำมาควบคุมในการทำ partial pyrolysis สำหรับเส้นใยธรรมชาติเช่น คอตตอน หรือขนสัตว์ เมื่อนำมาทำให้เกิด pyrolysis มักจะผลิตคาร์บอนที่ระเหยได้ในปริมาณน้อย ข้อจำกัดการตรวจสอบของมันใน PyGc คือ 50 ug เส้นใยเดี่ยวที่มีขนาดเล็กมากๆที่ถูกเก็บมาจากสถานที่เกิดเหตุอาชญากรรม จึงยากที่จะตรวจหาค่าสูงสุดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ pyrolysis อันจะถูกนำมาแยกแยะเส้นใยที่เป็นส่วนประกอบของ PyGC ต่อไป

การทำ PyGC สำหรับแยกแยะเส้นใยคอตตอน จะใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกริยาในกระบวนการ pyrolysis อาจใช้กรดฟอสฟอริค หรือ กรดไฮโดรคลอริค เพื่อสร้างสารระเหย เช่น furfural ในปริมาณที่เพียงพอสำหรับตรวจสอบ ซึ่งได้ถูกรายงานในงานวิจัยชิ้นก่อนหน้า ข้อมูลนี้ทำให้มีโอกาสเป็นไปได้ที่จะใช้ PyGC มาแยกแยะตัวอย่างเส้นใยคอตตอนขนาดเล็กละเอียด

การทำ PyGC สำหรับแยกแยะเส้นใยโปรตีนเช่น ขนสัตว์ การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกริยาถูกพบว่าไม่เพียงพอที่จะแก้ไข ข้อจำกัดในการตรวจสอบ สำหรับใช้จำแนกอณูตัวอย่างของเส้นใยโปรตีน Miki et al ได้รายงาน PyGC สำหรับวิเคราะห์เส้นใยขนสัตว์และเส้นใยโปรตีนอื่นๆ แต่ไม่ประสบความสำเร็จในเชิงของข้อจำกัดในการตรวจสอบเมื่อนำมาใช้ในกระบวนการนิติวิทยาศาสตร์ซึ่งต้องการผลวิเคราะห์ตัวอย่างเส้นใยที่มีขนาดเล็กจนถึงอณูละเอียด

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเส้นใยขนสัตว์มีคุณสมบัติทนกรดได้ดี แต่ไม่คงที่ต่อการทนด่าง โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของขนสัตว์จึงสามารถย่อยโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่ง เพิ่มเติมจากกรด งานวิจัยชิ้นนี้ทำการศึกษากระบวนการ PyGC โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกริยา เพื่อวิเคราะห์ส่วนประกอบของเส้นใยขนสัตว์โดยใช้กรดหลายชนิดเป็นตัวทดลอง ยิ่งกว่านั้น การทดลองยังใช้เพื่อวิเคราะห์ผ้าไหม เส้นใย 6-ไนลอน และโปรตีนได้อีกหลายชนิด

2. วัสดุและวิธีการทดลอง

2.1. ธาตุที่นำมาใช้ทดลองและอุปกรณ์การทดสอบ

2.1.1. กรดอะมิโนแอลฟ่า

Glycine (ไกลซีน), L-cysteine (ซิสทีอีน), L-threonine (ทรีโอนีน), L-histidine (ฮิสทิดีน), L-arginine (อาร์จินีน) และ L-tyrosine (ไทโรซีน) (Nacalai Tesque, Inc.); L-glutamic acid (กรดกลูตามีน), L-lysine (ไลซีน), L-aspartic acid (กรดแอสพาติก), L-cystine (ซิสทีน), L-tryptophan (ทริปโทเพน), Lmethionine (มีไทโอนีน),L-serine (เซอรีน), L-hydroxyproline

(ไฮโดรไซโพรลีน), L-proline (โพรลีน) (Pro), L-leucine (ลิวซีน) (Leu), L-isoleucine (ไอโซลิวซีน) (Ileu), L-valine (วาลีน) (Val), L-alanine (อะลานีน) (Ala) และ L-phenylalanine (เฟนิลอะลานีน) (Phe) (Wako Pure Chemical Industries Co.). 2-Methylbutyronitrile (2-เมทิลบูไทโรไนไตร), isobutyronitrile (ไอโซบูไทโรไนไตร) และ isovaleronitrile (ไฮโซวาลีโรไนไตร) (Tokyo-Kasei Organic Chemicals Co.), acetonitrile (อะซีโตไนไตร) และ toluene (โทลูอีน) (Wako Pure Chemical Industries Co.).

2.1.2. โปรตีน

Human hemoglobin, bovine hemoglobin, human serum albumin, ovalbumin และ casein (Tokyo-Kasei Organic Chemicals Co.).

2.1.3. เส้นใยสิ่งทอ

ขนสัตว์, ผ้าไหม และเส้นใยไนลอน-6 (ผ้ามาตรฐานสำหรับย้อมติดสี โดย JIS)

2.2. เครื่องมือสำหรับ PyGC และ PyGC-MS และเงื่อนไขการดำเนินงาน

ตารางที่ 1 เสนอเครื่องมือสำหรับ PyGC และ PyGC-MS และเงื่อนไขการเดินเดินงาน Curie-point pyrolysis

สองชนิด JHP-2 และ JHP-3 (Japan Analytical Industry Co.) ถูกนำมาใช้ต่อกับกาซ FID Chromatograph โดยตรง (Shimadzu GC-7AG) หรือ กาซ chromatograph-mass spectrometer unit (Shimadzu QP-1000)

DB-5 fused-silica ถูกนำมาใช้ในการทดลองนี้

Table 1

PyGC and PyGC-MS conditions

Pyrolyzer	
Instrument	Japan analytical industry
Curie point	Mode1 JHP-2 (GC), JHP-3 (GC-MS)
Pyrolysis	590°C; 3 s
Oven temperature	120°C
Pipe temperature	250°C

GC

Instrument	Shimadzu GC-7AG
Detector	FID
Column	J&W DB-5 (0.25 mm i.d.X30 m), film thickness 0.25 pm
Column temperature	60°C (8 min)-230°C (IO"C/min)
Injection temperature	230°C
Detector temperature	230°C
Carrier gas	Nitrogen, flow rate 1.0 ml/min, split 3O:l
Make up gas	Nitrogen, flow rate 50 ml/min

GC-MS

Instrument	Shimadzu QP-1000
Column	J&W DB-5 (0.25 mm i.d.X30 m), film thickness 0.25 pm
Column temperature	60°C (8 min)-230°C. IO"C/min
Injection temperature	230°C
Carrier gas	Helium, flow rate 1.0 ml/min
Make up gas	Helium, flow rate 40 mUmin
Ion source energy	70 eV(EI), 20 eV(C1)
Reaction gas	Isobutane

เงื่อนไขการทำงานของ PyGC มีดังนี้

- อุณหภูมิเตาอบจะถูกตั้งไว้ที่ 60°C เป็นระยะ 8 นาที จากนั้นเพิ่มเป็น 230°C โดยอัตราคงที่ 10องศาต่อนาที
- หัวฉีดและเครื่องตรวจใหความร้อนที่ 230°C กาซขนส่งได้ในไนโตรเจนที่ไหล อัตรา 1 มล.ต่อนาที
- อัตราส่วนแบ่งเป็น 30:1 ท่อและเตาอบของ pypolyzer รักษาอุณหภูมิคงที่ 250°C และ 150°C
- โปรแกรม pyrofoil สำหรับ 590°C นำมาใช้ และ pyrolysis สามาถทำงานได้ในอุณหภูมินี้

การจำแนกค่าสูงสุดสามารถเก็บได้โดยใช้ GC-MS ภายใต้เงื่อนไขดังที่จะอธิบายต่อไป

พลังงานไอโนไนซ์ถูกใช้ในระดับ 70eV (EI method) และ 20eV (CI method) และ การทำให้เป็นละอองที่ระดับ 60uA (EI method) และ 200uA (CI method) กาซปฏิกริยาสำหรับวิธี CI คือ ไอโซบูเทน

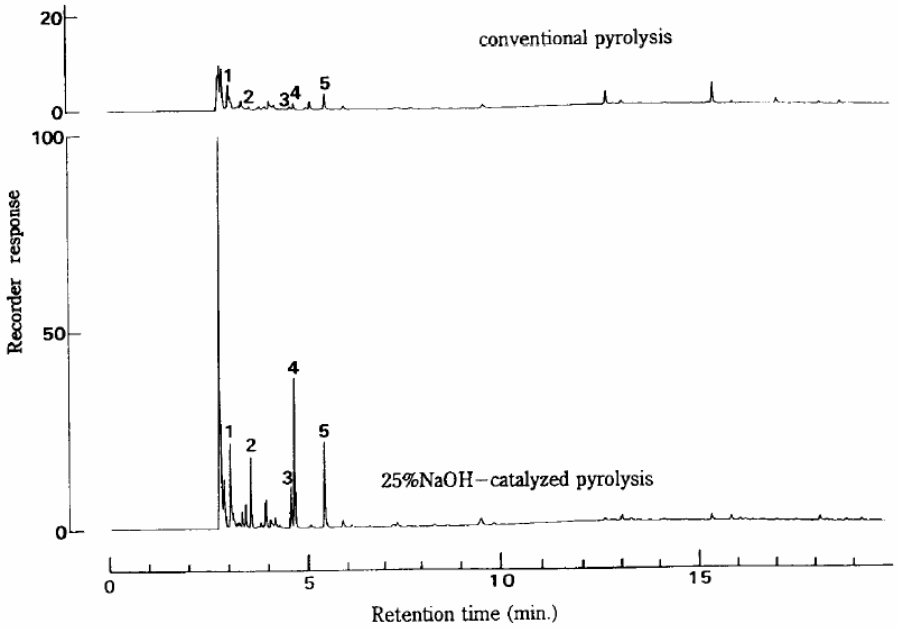
2.3. กระบวนการ PyGC เร่งปฏิกริยาโดยด่าง

ตัวอย่างประมาณ 20ug ประกอบด้วย เส้นใยขนสัตว์เดี่ยวแต่ละชนิดประมาณ 10 mm ในความยาว ถูกวางบนกระดาษ pyrofoil หลังเพิ่ม สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25% 0.5ul ตัวอย่างจะถูกห่อในกระดาษ pyropoil เพื่อใช้ใน PyGC

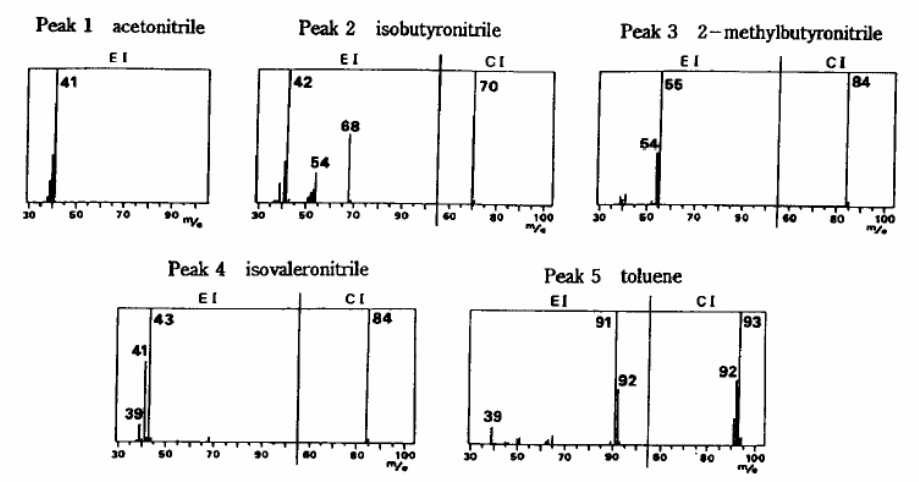
3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1. ด่าง และความเข้มข้นในการใช้สำหรับเป็นตัวเร่ง PyGC ของเส้นใยขนสัตว

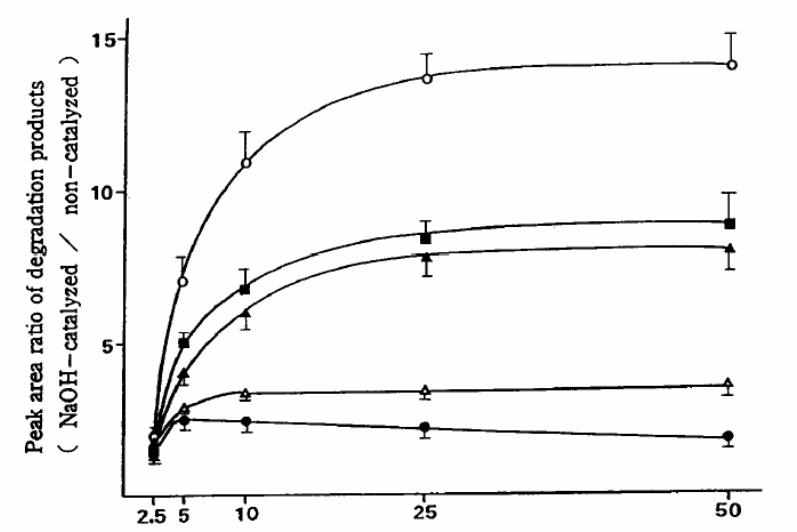
ตามขั้นตอนข้างต้นสำหรับการทำ PyGC โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกริยา สารที่ละลายในน้ำจะถูกนำมาเป็นตัวเร่งปฏิกริยา ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2.5-25% และ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 2.5-25% และ สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.5-10%



รูปที่ 1 เปรียบเทียบการใช้ไพโรแกรม ที่ได้จากการทำ PyGC โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกริยา และเพิ่มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25% เปรียบเทียบกับที่ไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกริยา จากรูปจะเห็นได้ชัดว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ระหว่างกระบวนการ pyrolysis ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เช่น peak 1 (อะซีโตไนไตร) peak 2 (ไอโซบูไทโรไนไตร) peak 3 (2-เมทิลบูไทโรไนไตร) peak 4 (ไอโซวาลีโรไนไตร) peak 5 (โทลูอีน) ซึ่งปรากฏในจุดที่เวลา (t_R) 3.0, 3.5, 4.5, 4.6 และ 5.3 นาที ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ช่วยกระตุ้นกระบวนการ pyrolysis และที่เวลาเดียวกัน ข้อสังเกตคือ การละลายโปรตีนเป็นสารประกอบกรดอะมิโน จะถูกกระตุ้นโดยการเร่งกริยาของโซเดียมไฮดรอกไซด์



รูปที่ 2 แสดงสเปกตรัมมวล EI และ CI ใช้ในการจำแนกผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ pyrolysis สเปกตรัมมวบนี้สามารถเทียบได้กับสารที่รู้ค่าอยู่แล้ว การเพิ่มสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต หรือโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ไม่สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ pyrolysis เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดสามารถสรุปได้ว่า สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์น่าจะใช้เป็นสารด่างเร่งปฏิกริยาในกระบวนการ PyGC ของเส้นใยขนสัตว์



รูปที่ 3 แสดงผลจากการสังเกตการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เปรียบเทียบระหว่าง PyGC แบบไม่ใช้ตัวเร่ง การใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.5% ไม่สามารถแสดงปริมาณผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ PyGC ให้เห็นชัดเจนได้ มีสารเกิดขึ้นห้าชนิดด้วยกัน ได้แก่ อะซีโนไนไตร, ไอโซบูไทโรไนไตร, 2-เมทิลบูไทโรไนไตร, ไฮโซวาเลอโรไนไตร และ โทลูอีน สี่ชนิดหลังอันได้แก่ ไอโซบูไทโรไนไตร, 2-เมทิลบูไทโรไนไตร, ไฮโซวาเลอโรไนไตร และ โทลูอีน นั้นสามารถสังเกตได้ว่าผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้น หากเพิ่มปริมาณสารด่าง เพิ่มถึง 25% และที่ 25% อีกทั้งยังพบว่าที่ระดับ 7.6, 8.2, 13.5, และ 3.5 ครั้งในแต่ละอย่างของกระบวนการ PyGC ที่ไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกริยา ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ระหว่าง 25 และ 50% ไม่พบความต่างของปริมาณผลิตภัณฑ์อย่างไรก็ตาม อะซีโทนีน ถูกพบว่าสร้างผลผลิตได้มากที่สุด ที่ความเข้มข้น 5% ซึ่งเป็น 2.4 เท่า ของกระบวนการที่ไม่ใช้ตัวเร่ง หลังจากนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้พบว่าลดลงอย่างรวดเร็วจากผลข้างต้น จึงมีการตัดสินใจนำสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้ม 25% มาใช้

3.2 การสังเกตสิ่งที่จะนำไปใช้

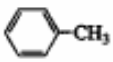
กระบวนการทดลอง PyGC โดยใช้สารเร่งด่าง มีข้อควรตรวจสอบซิลิกาผสม capillary สี่ชนิดดังนี้ : DB-1, DB-5 and DB-17 (30 mX0.25 mm i.d., film thickness 0.25 km) สนับสนุนโดย by J&W Co., CA; และ SP-WAX (30 mX0.25 mm i.d., film thickness 0.25 km) สนับสนุนโดย by Sigma Aldrich Japan Co. Ltd. ทั้งหมดจะถูกทดสอบภายใต้เงื่อนไขเดียวกันในแง่อุณหภูมิเป็นต้น

สำหรับ DB-1นั้น สามารถแยกทดลองได้สองวิธี คือ เมทิลบูไทโรไนไตร และ ไอโซวาเลอโรไนไตร ส่วน DB-17 พบว่ายากที่ยะแยกเป็นสองวิธีคือไอโซวาเลอโรไนไตร กับ โทลูอีนนั้นเช่นเดียวกับ SP-WAX ที่ยากในการแยกเป็นอะซีโตไนไตร และไอโซบูไทโรไนไตร มีเพียงแค่ DB-5 เท่านั้นที่สามารถแยกได้เป็น ผลิตภัณฑ์ 5 อย่างจากกระบวนการ pyrolysis จึงสรุปว่าจะใช้ DB-5 ในการนำเสนอ การใช้ด่างเป็นตัวเร่ง

3.3 การประเมินค่าสูงสุดห้าช่วง

กรดแอลฟาแต่ละตัวที่ได้กล่าวแล้วข้างต้นได้ถูกเตรียมในรูปสารละลาย หยดบนแผ่น pyrofoil ให้มีน้ำหนัก 20 ug นำไปทำให้แห้งบนแผ่นความร้อน 40°C เพิ่ม โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 25% ปริมาณ 0.5 ul จากนั้นห่อแผ่น pyrofoil เพื่อเตรียมไปใช้ในกระบวนการ PyGC

Table 2
Degradation products identified on the alkali-catalyzed pyrolysis of wool

Peak No. [a]	Degradation products	Amino acid residues assigned
1	CH_3-CN (Acetonitrile)	NH- CH_3-CH-CO- (Alanine) or N, CO- (Proline)
2	CH_3-CH(CH_3)-CN (Isobutyronitrile)	NH- CH_3-CH(CH_3)-CH-CO- (Valine)
3	CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CN (2-Methylbutyronitrile)	NH- CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH-CO- (Isoleucine)
4	CH_3-CH(CH_3)-CH_2-CN (Isovaleronitrile)	NH- CH_3-CH(CH_3)-CH_2-CH-CO- (Leucine)
5	 -CH_3 (Toluene)	NH- -CH_2-CH-CO- (Phenylalanine)

a) Peak numbers correspond to the pyrogram of wool (Fig.1).

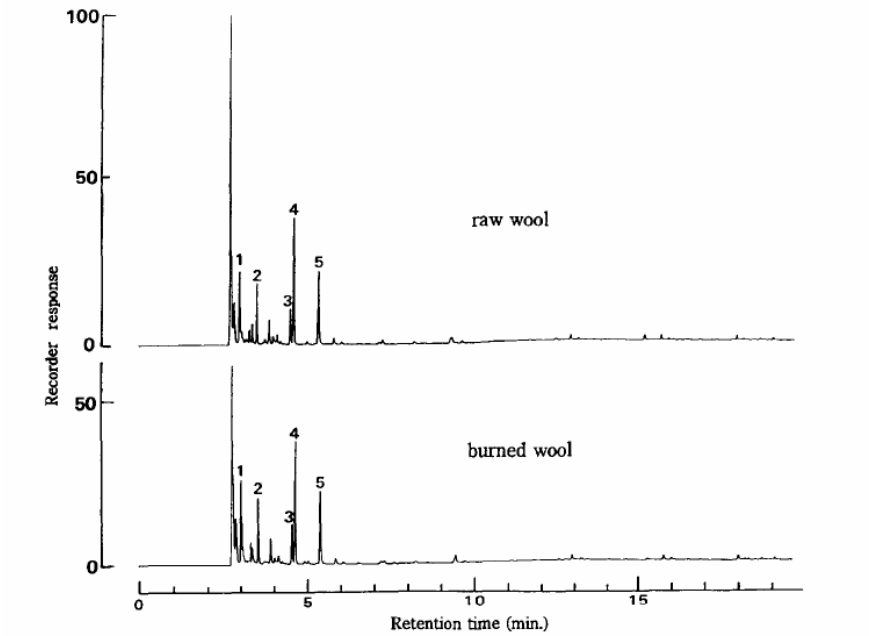
ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากกระบวนการนี้คือกรดอะมิโน อะซีโตรไนไตร ได้มาจาก Ala และ Pro, ไอโซบูไทโรไนไตรจาก Val, 2-เมทิลบูไทโรไนไตร จากIleu, ไอโซวาเลอโรไนไตรจาก Leu และโทลูอีน จาก Phe ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสามารถสรุปผลได้ว่าผลิตภัณฑ์ 5 ชนิดที่ได้มาจากกระบวนการ pyrolysis ของเส้นใยขนสัตว์ ที่ได้กล่าวมาข้างต้น เป็นผลมาจากกรดอะมิโน ที่เหลือจากโปรตีนขนสัตว์ดังต่อไปนี้ อะซีโตรไนไตร จาก Ala และ Pro, ไอโซบูไทโรไนไตร จาก Val, 2-เมทิลบูไทโรไนไตร จาก Ileu, และโทลูอีน จาก Phe

มีบางรายงานได้กล่าวถึงการทำ PyGC ที่ไม่ใช่ตัวเร่งปฏิกริยา พบว่ากรดอะมิโน และโปรตีนที่ตรวจเจอ เอไมน์ และอัลดีไฮเดส เป็น pyrolysate หลัก ในการทำ PyGC ที่โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่ง สารเหล่านี้ไม่สามารถตรวจพบ

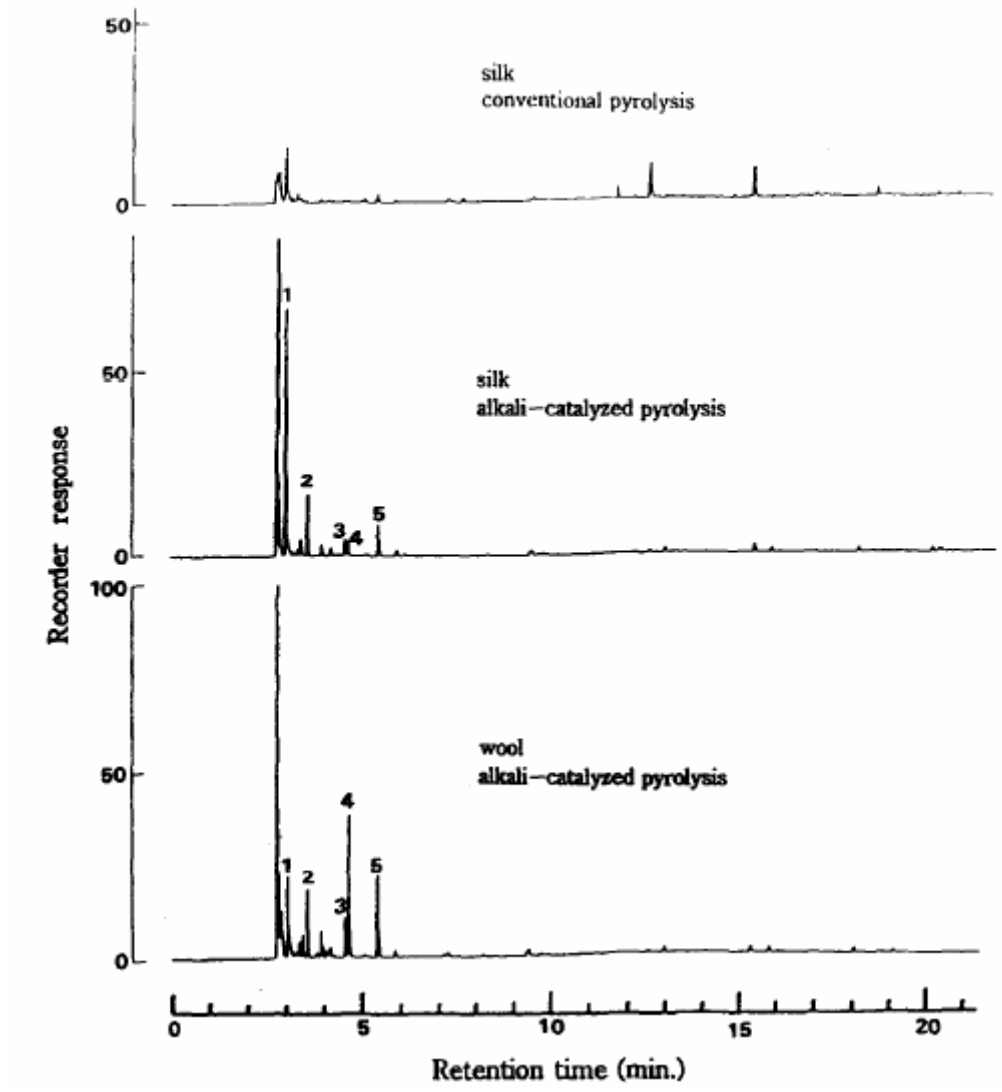
3.4 การวิเคราะห์เส้นใยขนสัตว์โดยการแยกดีเอ็นเอในความร้อน (thermal denaturation)

เส้นใยขนสัตว์มีลักษณะทางสัณฐาณวิทยา ดังนั้น เมื่อถูกเก็บมาในลักษณะทั่วไปโดยไม่มีการแสดง denaturation ที่ความร้อน สามารถจำแนกได้โดยการสังเกตผ่านกล้องจุลทัศน์ และทดสอบวัสดุโดยใช้ Fourier-transform กับกล้องไมโครอินฟาเรด อย่างไรก็ตามตัวอย่างเส้นใยขนสัตว์ที่นำมาทำ thermal denaturation นั้นยากที่จะใช้วิธีนี้ในการจำแนก



กระบวนการ PyGC ที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นด่างตัวเร่งปฏิกริยา พบว่าได้ผลที่ดีในการตรวจกับตัวอย่างเส้นใยขนสัตว์ที่จะนำมาทำ thermal denaturation ตัวอย่างที่เตรียมไว้ในรูปแบบต่อไปนี้ : เซตของเส้นใยขนสัตว์หนักประมาณ 100ug ทั้งหมด 20 ชิ้น แต่ละ 10mm ในความยาวถูกเผาโดยใช้แผ่นความร้อนเล็กๆ

ตามที่แสดงในรูปที่ 4 pyrogram ได้รับโดยการที่รูปแบบของค่าสูงสุด ค่อนข้างที่จะเหมือนกันกับที่ได้รับจากการทำตัวอย่าง raw wool fiber สามารถสรุปได้ว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่นำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกริยาสามารถแยกแยะตัวอย่างของอณุเส้นใยขนสัตว์ชิ้นละเอียดเล็ก ใช้ในการทำ thermal denaturation ได้ด้วย



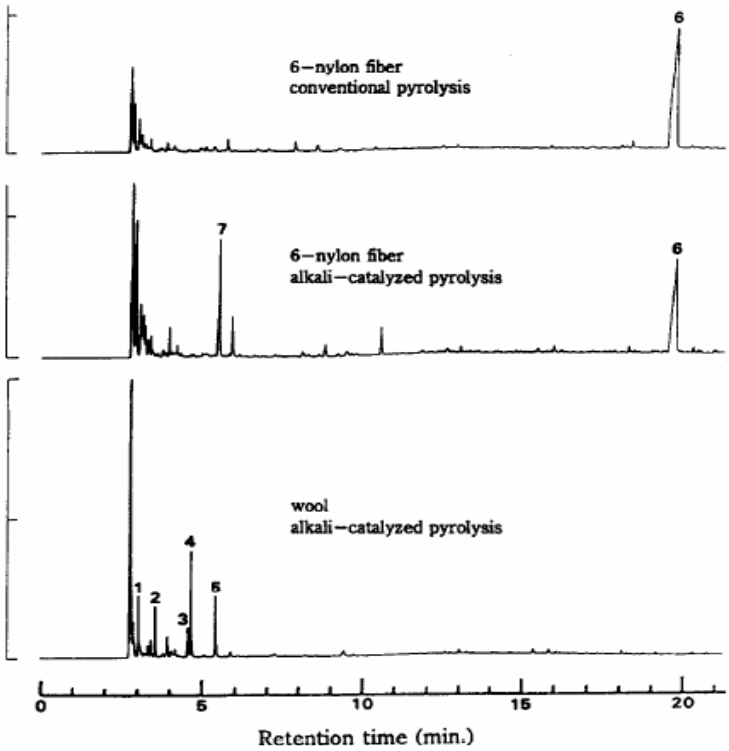
3.5 ตัวอย่างการทดลองในเส้นใยชนิดอื่นๆ

ในกระบวนการ PyGC ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ถูกนำไปใช้กับผ้าไหมและเส้นใยไนลอนชนิด 6 ที่มีรูปแบบของการบิดเป็นสายยาว 8 มม.ยาวเรียงกัน (ประมาณ 20 มิวกรัม) และในรูปแบบของชุดเส้นใย 5 ชิ้น แต่ละชิ้นเป็นเกลียวยาว 10 มม.ยาวเรียงต่อกันไป (ประมาณ 20 มิวกรัม) เส้นใยผ้าไหมเป็นเส้นใยที่มีสารประกอบโปรตีนเป็นหลัก และ ไนลอนชนิด 6 เป็นเส้นใยสังเคราะห์ที่มีกรดเอไมด์ที่มีส่วนประกอบคล้ายโปรตีนอยู่.

กราฟแสดงการเรียงตัวของวัสดุทั้งสองแสดงในรูปที่ 5 และ 6 ซึ่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างกระบวนการ PyGC ที่ไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับเส้นใยขนสัตว์

เราสามารถมองเห็นได้ชัดเจนว่ากระบวนการ PyGC ที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้ program ที่สามารถระบุได้ สำหรับผ้าไหมและไนลอนชนิด 6 ซึ่งแตกต่างจากเส้นใยขนสัตว์ ทำให้ได้ข้อสรุปที่ว่า วิธีนี้สามารถนำไปใช้ระบุวัสดุเส้นใยสองชนิดนี้ได้

ในกรณีของตัวอย่างผ้าไหม เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการ PyGC ที่ไม่ใช้ตัวเร่งและใช้ตัวเร่ง, การใช้ตัวเร่งสามารถมองเห็นผลิตภัณฑ์ 5 ชนิดพิเศษเพิ่มมาได้ นั่นคือ อซีโตไนตริล, ไอโซบูไทโรไนตริล, เมทิลบูไทโรไนตริลชนิด 2, ไอโซวาเลโรไนตริล, และโทลูอีน เป็นจุดสูงสุดหลักๆเหมือนตัวอย่างที่ได้จากตัวอย่างเส้นใยขนสัตว์ รูปแบบความสัมพันธ์ของความหนาแน่นของจุดสูงสุดเหล่านี้



ถูกพบความแตกต่างระหว่างกรณีของผ้าไหมและเส้นใยขนสัตว์ ของการมีค่าสูงสุดของ อซีโตไนตริล มากกว่าสารอื่นๆอีก 4 ชนิดใน 5 ชนิดที่เกิดขึ้น นี่อาจเพราะความจริงแล้วผ้าไหมมีกรดอมิโนที่มีไกลคีนและอาลาเป็นกรดอมิโนหลักที่เหลือในปริมาณที่มากกว่ากรดอมิโนชนิดอื่นที่เหลือ เช่น แวล, อิลลู, ลู, และฟี

ในกรณีของตัวอย่างเส้นใยไนลอนชนิด 6 ที่จุด tr=5.3 นาที ได้มีจุดกำหนดตรง เพนทาเนไนตริล ได้สังเกตุว่ามีจุดสูงสุดของ คาร์โปแลกตัม เพิ่มเข้ามาในไนลอนชนิด 6 โมเลกุลเดี่ยว ซึ่งถูกพบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ pyrolysis หลักจากกระบวนการ PyGC ที่ไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา

3.6 ตัวอย่างการทดลองในสารโปรตีนอื่นๆต่างชนิดกัน

สารละลาย ฮีโมโกลบินในมนุษย์, สารละลายฮีโมโกลบินของวัว, ซีรั่มอัลบูมินของมนุษย์, โอวัลบูมิน, และเคซีน ได้ถูกเตรียมไว้ แต่ละสารละลายถูกแยกไว้โดยนำไปหยดใส่ไว้ในการดาษไพโรฟรอยด์ที่น้ำหนักชนิดละ 20 มิวกรัมและถูกทำให้แห้งโดยการวางบนแผ่นโลหะที่ 40 องศาเซลเซียส และเติมสารประกอบโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปในปริมาณ 0.5 มิวกรัม ของ 25 เปอร์เซนต์ และห่อโดยไพโรฟรอยด์เพื่อใช้ในกระบวนการ PyGC

ตารางที่ 3 แสดงผลลัพธ์ที่ได้ของกรดอมิโนที่เหลือของเส้นใยขนสัตว์ ผ้าไหม, และสารประกอบโปรตีนเหล่านี้ และค่าความหนาแน่นของกรดอมิโนที่เหลือจากการทดลองที่สัมพันธ์กัน ค่าความสัมพันธ์ของกรดอมิโนจะอยู่ในค่ามาตรฐานที่ 1.00 สำหรับฟี ซึ่งมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักๆโดยทั่วไป และค่าความหนาแน่นมาตรฐานที่ 1.00 สำหรับ โทลูอีน ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักของฟี รูปแบบของจุดสูงสุดของกระบวนการ pyrolysis สามารถเห็นค่าความหนาแน่นที่แตกต่างได้อย่างชัดเจนระหว่างแต่ละอัน ขึ้นอยู่กับค่าของกรดอมิโนที่เหลือระหว่างโปรตีนชนิดต่างๆ ซึ่งทำให้ได้ข้อสรุปที่ว่า การแยกแยะโปรตีนต่างๆ สามารถทำได้

ในกรณีของฮิโมโกลบินในมนุษย์, ฮิโมโกลบินในวัว, และ เมทิลบูไทโรไนตริลไม่สามารถพบได้ นี่ทำให้เห็นข้อเท็จจริงที่ว่าฮิโมโกลบินไม่มีส่วนผสมของโปรตีน อิลู ในกรดอมิโนที่เหลืออยู่เลย

ในกรณีของ โอวัลบูมิน จุดสูงสุดของ อซีโตไนตริลปรากฏค่าความหนาแน่นที่เหลือของ อาลาและโปร ค่อนข้างแน่นหนากว่าที่คาดไว้ ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นข้อเท็จจริงที่ว่า โอวัลบูมินคือ ไกลโคโปรตีน บางผลิตภัณฑ์ของกระบวนการ pyrolysis ของคาร์โบไฮเดรตที่เหลือของมันจะถูกรบกวนค่าที่ถูกต้องในจุดยอดของอซีโตไนตริล

4. บทสรุป

การใช้สารประกอบของด่างที่ต่างกันหลากหลายมีประโยชน์ในกระบวนการเร่งปฏิกิริยา โดยใช้ด่างเป็นตัวทำปฏิกิริยาของการใช้ gas ในการวิเคราะห์ ทดสอบเพื่อแยกแยะตัวอย่างเส้นใยขนสัตว์ที่มีปริมาณน้อยมากๆได้

การปรากฏของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในระหว่างการ pyrolysis พิสูจน์ได้ว่ามีการเพิ่มสารระเหยเฉพาะของกรด อมิโนในที่เหลือตามลำดับของโปรตีนเส้นใยขนสัตว์ นั่นคือ อซีโตไนตริลจากอาลาและโปร, ไอโซบูไทโรไนตริลจากแวล, เมทิลบูไทโรไนตริลชนิด 2 จาก อิลลู, ไอโซวาเลโรไนตริล จากลู, และโทลูอินจากฟี กระบวนการ PyGC ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพบว่าทำให้สามารถสืบหาเส้นใยขนสัตว์ที่มีปริมาณจำกัดได้ดีกว่าไม่ใช้ตัวเร่ง และสามารถแยกแยะและสรุปผลได้ในกรณีที่มีตัวอย่างเพียงนิดเดียว กระบวนการ PyGC ที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาใช้พิสูจน์เพื่อแยกแยะตัวอย่างขนสัตว์ในปริมาณที่น้อยนิดที่ถูกควบคุมโดยอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปทำได้ยากที่จะแยกแยะโครงสร้างของสัตว์และพืชโดยใช้การส่องกล้องและโดยใช้การพิสูจน์หาเส้นใยขนสัตว์โดยการส่องกล้องอิฟาเรด

เพิ่มเติม, กระบวนการ PyGC นี้ประสบผลสำเร็จในการทดลองในตัวอย่างที่มีน้อยๆของสารประกอบโปรตีนต่างๆได้มากกว่าที่มีในเส้นใยขนสัตว์ และให้ผลที่แตกต่างในกรณีที่มีสารประกอบโปรตีนกรดอมิโนที่แตกต่างได้

เราสามารถสรุปได้จากผลลัพธ์นี้ว่า กระบวนการ PyGC ที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประโยชน์มากมายในการนำมาใช้เพื่อพิสูจน์หลักฐานในทางนิติวิทยาศารตร์ PyGC วิธีนี้ใช้หลักการพิสูจน์เดียวกับการพิสูจน์โดยไม่ใช้ตัวเร่ง ยกเว้น การเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปเท่านั้น แต่ยังเป็นวิธีที่ง่ายที่จะใช้ เพื่อหาผลพิสูจน์ของตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยได้อย่างรวดเร็วของเส้นใยขนสัตว์และสารประกอบโปรตีนอื่นๆที่เกี่ยวข้อง