



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I693402 B

(45)公告日：中華民國 109 (2020) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：107143464

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 12 月 04 日

(51)Int. Cl. : G01N31/10 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：呂濟宇 LU, CHI-YU (TW)；李依珊 LI, YI-SHAN (TW)

(74)代理人：黃耀霆

(56)參考文獻：

Hyun-Hee Lim et al. A new derivatization approach with d-cysteine for the sensitive and simple analysis of acrylamide in foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1361 (2014) 117-124.

微波衍生化及固相微萃取結合氣相層析技術檢測丙烯醯胺之研究 <https://hdl.handle.net/11296/5h5dbg> (紙本論文公開日期 2008.06.17)

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：5 項 圖式數：7 共 27 頁

(54)名稱

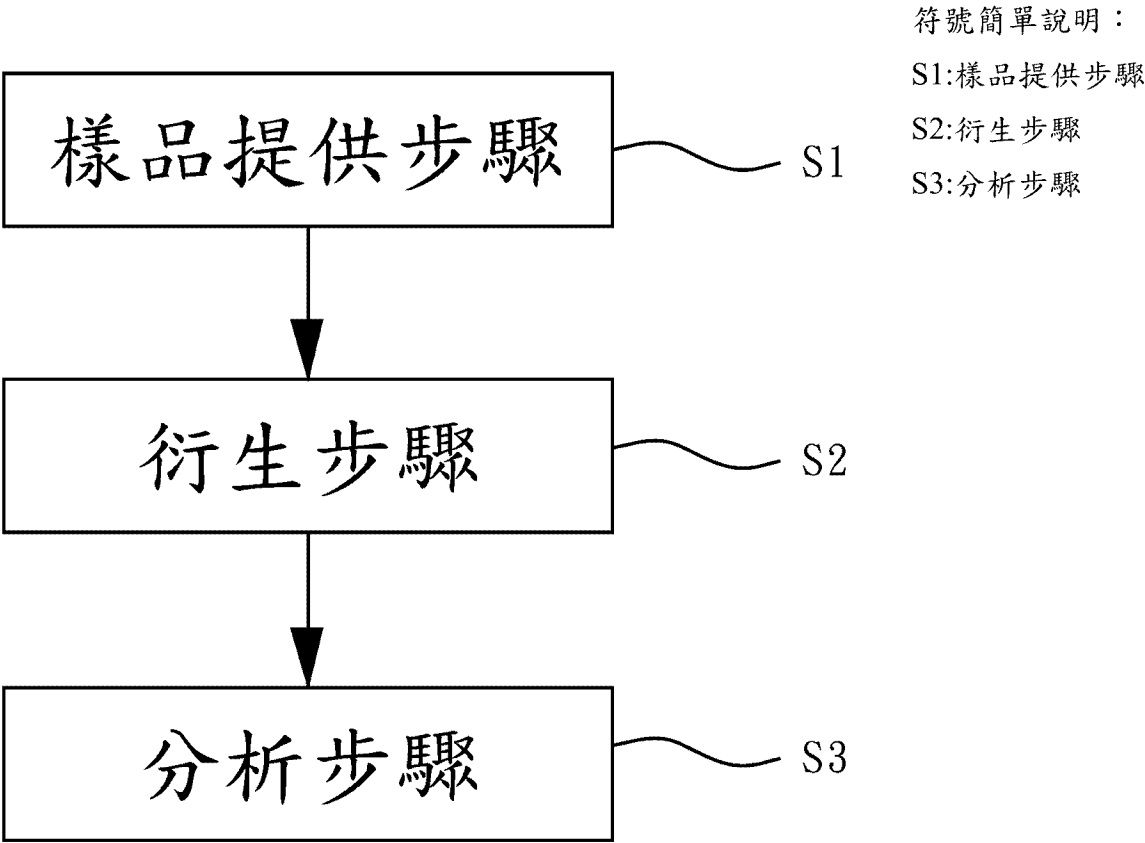
用以檢測丙烯醯胺的寡肽、套組及方法

(57)摘要

一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列；本發明另關於包含該寡肽的套組，以及使用該寡肽以檢測丙烯醯胺的方法。

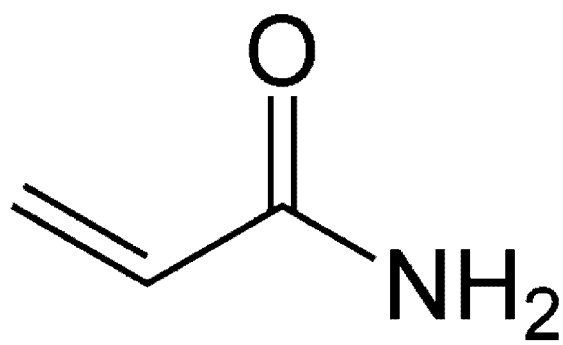
An oligopeptide is used for detecting acrylamide in drinking water, cosmetics and foods. The oligopeptide comprises an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 2. A kit including the oligopeptide, as well as a method for detecting acrylamide using the oligopeptide, are also disclosed.

指定代表圖：



【第 2 圖】

特徵化學式：



丙烯醯胺（acrylamide）

I693402

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 用以檢測丙烯醯胺的寡肽、套組及方法

【英文發明名稱】 Oligopeptide, Kit and Method for Detecting Acrylamide

## 【中文】

一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列；本發明另關於包含該寡肽的套組，以及使用該寡肽以檢測丙烯醯胺的方法。

## 【英文】

An oligopeptide is used for detecting acrylamide in drinking water, cosmetics and foods. The oligopeptide comprises an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 2. A kit including the oligopeptide, as well as a method for detecting acrylamide using the oligopeptide, are also disclosed.

【指定代表圖】 第 2 圖

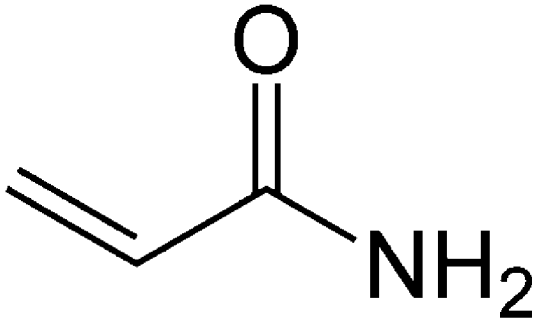
【代表圖之符號簡單說明】

S1:樣品提供步驟

S2:衍生步驟

S3:分析步驟

## 【特徵化學式】



丙烯醯胺（acrylamide）

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 用以檢測丙烯醯胺的寡肽、套組及方法

【英文發明名稱】 Oligopeptide, Kit and Method for Detecting Acrylamide

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種寡肽，特別是一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽。本發明另關於一種包含該寡肽的丙烯醯胺檢測套組，以及使用該寡肽的丙烯醯胺檢測方法。

### 【先前技術】

【0002】 丙烯醯胺（acrylamide）為一種白色無味的結晶固體，其聚合物（即，聚丙烯醯胺，polyacrylamide）常可以作為增稠劑（thickening agent）或絮凝劑（flocculating agent）使用，而被應用於造紙或水處理（water treatment）過程中，或是添加於染料、化妝品中；雖然聚丙烯醯胺不具毒性，卻會在使用過程中殘留一些呈單體的丙烯醯胺。此外，食物中的天門冬醯胺（arginine）及果糖、葡萄糖、乳糖、麥芽糖等還原糖（reducing sugar）在油炸或烘焙的高溫下，即會發生梅納反應（Maillard reaction）而形成丙烯醯胺。

【0003】 由於丙烯醯胺具有神經毒性（neurotoxicity）、生殖毒性（reproductive toxicity）、基因毒性（genotoxicity），也屬於國際癌症研究機構（IARC）所認定的第 2A 類的致癌物（group 2A carcinogen），因此確實必要進行飲水、化妝品及食品中濃度之監控，以避免誘發毒性或其他副作用之產生。

### 【發明內容】

PK15483-A131

第1頁，共 12 頁(發明說明書)

【0004】 為解決上述問題，本發明的主要目的係提供一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽，其能夠直接與丙烯醯胺發生衍生反應，而能夠應用於檢測丙烯醯胺者。

【0005】 本發明的另一目的係提供一種丙烯醯胺檢測套組，係包含前述之寡肽者。

【0006】 本發明的再一目的係提供一種丙烯醯胺檢測方法，係搭配使用前述之寡肽者。

【0007】 本發明提供一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列；如此，本發明之用以檢測丙烯醯胺的寡肽，藉由該寡肽能夠直接與丙烯醯胺進行一衍生反應的特性，進而可以達成提升丙烯醯胺被辨識之辨識效率及專一性之功效。

【0008】 基於相同的技術概念下，本發明另提供一種丙烯醯胺檢測套組，用以檢測一待測樣品是否包含丙烯醯胺，其包含：上述之用以檢測丙烯醯胺的寡肽，該寡肽能夠與該待測樣品中的丙烯醯胺進行一衍生反應以形成一丙烯醯胺衍生物；及咪唑，係用以提供進行該衍生反應的一鹼性環境；如此，藉由咪唑所提供的鹼性環境，可以進一步促進該衍生反應的進行，為本發明之功效。

【0009】 又，本發明另提供一種丙烯醯胺檢測方法，係包含：提供一待測樣品，包含濃度介於 0.2~20  $\mu\text{g/mL}$  之間的丙烯醯胺；混合該待測樣品、咪唑，及上述之用以檢測丙烯醯胺的寡肽，使該寡肽與該待測樣品所含有之丙烯醯胺進行一衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液含有一丙烯醯胺衍生物；及使該衍生溶液與一基質形成一結晶狀固態物，以一雷射光束離子化該衍生溶液中的丙烯醯胺衍生物，使該丙烯醯胺衍生物形成一氣相離子，並以一質荷比分析器檢測該氣相離子，以獲得一丙烯醯胺強度值；其中，該寡

肽的濃度為 0.5~2 mM，咪唑的濃度為 0.1~1 M，該基質為  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸或二羥基苯甲酸。

【0010】 據此，本發明之丙烯醯胺檢測方法，藉由該寡肽的使用，可以提升丙烯醯胺被辨識之辨識效率及專一性，因而僅以少量之待測樣品，即可以精確地被檢測，適用於難以取得、或較為高價之待測樣品，為本發明之功效；再者，本發明之丙烯醯胺檢測方法，可以使該丙烯醯胺衍生物形成該氣相離子，並且根據質荷比分析器偵測該氣相離子之質荷比，進而計算出該待測樣品中是否含有丙烯醯胺，可以大幅減少檢測及分析之時間，達到快速待測樣品篩檢之功效；再且，本發明之丙烯醯胺檢測方法，僅使用少量之有機溶媒，可以減少檢測過程中產生之大量有機廢液，進而達到減少環境污染之功效。

【0011】 本發明的丙烯醯胺檢測方法中，係能夠以微波方式提供一能量（例如以 100~800 W 之功率微波 1~10 分鐘），使該衍生反應得以進行；如此可以有效驅使該衍生反應的進行，以縮短該衍生反應的時間。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0012】

〔第 1 圖〕 丙烯醯胺的化學結構式。

〔第 2 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之流程圖。

〔第 3a 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同胺基酸序列的寡肽之測試長條圖。

〔第 3b 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同濃度的寡肽之測試長條圖。

〔第 4a 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同種類的鹼催化劑之測試長

條圖。

〔第 4b 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同濃度的鹼催化劑之測試長條圖。

〔第 5a 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同的微波瓦數之測試長條圖。

〔第 5b 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同的微波時間之測試長條圖。

〔第 6 圖〕 本實施例之丙烯醯胺檢測方法之不同種類的基質之測試長條圖。

〔第 7a 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $0.2 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 7b 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $1 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 7c 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $2 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 7d 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $5 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 7e 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $10 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 7f 圖〕 以本實施例之丙烯醯胺檢測方法分析濃度為  $20 \mu\text{g/mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

## 【實施方式】

【0013】 為讓本發明之上述及其他目的、特徵及優點能更明顯易懂，下

文特舉本發明之較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下：

【0014】 請參照第 2 圖所示，本發明之丙烯醯胺檢測方法之一實施例係包含：一樣品提供步驟 S1，係提供一待測樣品，該待測樣品含有丙烯醯胺，一衍生步驟 S2，係使該待測樣品所含有之丙烯醯胺與一衍生試劑進行一衍生反應，使該待測樣品所含有之丙烯醯胺形成一丙烯醯胺衍生物；及一分析步驟 S3，係分析該丙烯醯胺衍生物，以獲得一丙烯醯胺強度值。

【0015】 詳而言之，於該樣品提供步驟 S1 中，該待測樣品可以為任何可能含有丙烯醯胺者，例如經過淨化之廢水、飲用水，甚至是染料、化妝品、及經過油炸、烘焙等高溫處理後的食品，惟此僅為本發明所屬技術領域中具有通常知識者可以瞭解，於此不加以限制。

【0016】 此外，該待測樣品可以經過前處理，以利後續之衍生步驟 S2 及分析步驟 S3 的進行。舉例而言，該待測樣品為食品時，可以依循美國食品藥品監督管理局（U.S. Food and Drug Administration）所公告之「偵測及定量食品中的丙烯醯胺（Detection and Quantitation of Acrylamide in Foods）」

| 網                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 頁 | 內 | 容 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|
| <p>（<a href="http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm053537.htm">http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm053537.htm</a>）中“樣品處理（sample preparation）”段落所載；又，該待測樣品為呈液狀、乳液狀、乳霜狀的化妝品時，則可以取 0.1 公克之待測樣品溶於 1 mL 的水中，混合均勻後再以水稀釋 10 倍後備用，最終取 5 <math>\mu</math>L 進行後續衍生步驟 S2。</p> |   |   |   |

【0017】 該衍生步驟 S2 中，係將一寡肽作為該衍生試劑，該寡肽係包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列，且溶於水中（濃度為 0.5~2 mM）。於本實施例中，係混合該衍生試劑與該待測樣品而形成一待反應液後，對該待反應液施予一能量，使該衍生試劑與該待測樣品所含有之丙烯醯胺進行該

衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液係含有該丙烯醯胺衍生物，例如可以利用微波方式施予 3~12 kW/h 之能量，使該衍生反應得以進行，本實施例中，係使用功率為 100~800 W 之微波爐，對該待反應液微波 1~10 分鐘，即可以使丙烯醯胺及該寡肽進行該衍生反應而獲得該衍生溶液。

【0018】 為了提供適合進行衍生反應的環境，該待反應液中可以另包含一鹼催化劑，舉例而言，該鹼催化劑可以為咪唑（imidazole），於本實施例中，該鹼催化劑係選擇為濃度為 0.1~1 M 之咪唑。

【0019】 該分析步驟 S3 中，係可以選擇以基質輔助雷射脫附離子化-飛行時間質譜儀（matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometer，簡稱 MALDI-TOF MS）進行分析，但不以此為限。詳而言之，該衍生溶液係可以置於該基質輔助雷射脫附離子化-飛行時間質譜儀之一樣品托盤（target plate），覆蓋上一基質（matrix），使該基質與該衍生溶液形成一結晶狀固態物，該基質係可以吸收波長為 330~360 nm 之雷射光束。於本實施例中，該基質可以為  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸（ $\alpha$ -cyanol-4-hydroxycinnamic acid，簡稱 CHCA）或二羥基苯甲酸（2,5-dihydroxybenzoic acid，簡稱 2,5-DHB）。

【0020】 接著，以波長為 330~360 nm 之一雷射光束照射該結晶狀固態物，使該結晶狀固態物可以被激發，以形成一氣相離子，該氣相離子經由電場加速後，可以進入一質荷比分析器，以偵測該氣相離子之質荷比（mass-to-charge ratio，簡稱 m/z），以獲得該待測樣品之丙烯醯胺強度值；該質荷比分析器係可以選自飛行式時間質荷比分析器（time-of-flight analyzer，簡稱 TOF analyzer）、四極棒質荷比分析器（quadrupole analyzer）、離子阱質荷比分析器（ion trap analyzer，簡稱 IT analyzer）及傅立葉轉換質荷比分析器（Fourier transform-ion cyclotron resonance，簡稱 FT-ICR）。於本較佳實施

例中，該質荷比分析器係選擇為飛行式時間質荷比分析器（time-of-flight analyzer，簡稱 TOF analyzer），其分析速度快，結合基質輔助雷射脫附游離法，係可以有效節省樣品分析之時間。

【0021】 值得注意的是，MALDI-TOF MS 於偵測小分子物質時，由於背景雜訊較高，因此多不適用於偵測小分子物質，本實施例丙烯醯胺檢測方法則係藉由該衍生步驟 S2 大幅放大丙烯醯胺之訊號，同時避開造成干擾之背景雜訊，而使 MALDI-TOF MS 得以應用於其中。

【0022】 較佳地，更可以於該衍生步驟 S2 中，於該待反應液中添加一內部標準品（internal standard），該內部標準品係可以選擇為丙烯醯胺同位素，於本實施例中，係丙烯醯胺- $^{13}\text{C}_3$ ，該內部標準品同樣經由該衍生反應，與該基質形成該結晶狀固態物，並且被雷射光束激發形成該氣相離子。根據質荷比分析器分析該內部標準品之丙烯醯胺強度值，與該待測樣品所得之丙烯醯胺強度值相比，將數值帶入丙烯醯胺之檢量線，即可以計算出該待測樣品中的丙烯醯胺的含量。

【0023】 為證實本實施例之丙烯醯胺檢測方法係能夠用以檢測待測樣品中所含之丙烯醯胺含量，遂配製濃度為 20  $\mu\text{g/mL}$  之丙烯醯胺作為標準品（溶解於水），及配製濃度為 10  $\mu\text{g/mL}$  之丙烯醯胺同位素（即丙烯醯胺- $^{13}\text{C}_3$ ）作為內部標準品（溶解於水）；續混合體積各為 5  $\mu\text{L}$  之丙烯醯胺、丙烯醯胺同位素、該鹼催化劑（咪唑，濃度為 0.5 M）及該寡肽（溶於水，濃度為 1 mM），以微波方式進行加熱（功率為 100 W、微波時間為 2 分鐘），促進該衍生反應之進行，續將 0.5  $\mu\text{L}$  之衍生溶液點於該樣品托盤後，以 0.5  $\mu\text{L}$  之基質（2,5-DHB）覆蓋於其上，係以 MALDI-TOF MS 進行分析，以獲得該丙烯醯胺強度值，並進行下列試驗：

【0024】 （A）衍生試劑的選擇

【0025】 本試驗各組之衍生試劑（濃度皆為 1 mM）係分別選用如第 1 表所示之寡肽，其餘試驗條件均如上所述。

【0026】 第 1 表、本試驗各組之寡肽的胺基酸序列

| 組別  | 胺基酸序列        |
|-----|--------------|
| A1  | SEQ ID NO：1  |
| A2  | SEQ ID NO：2  |
| A3  | SEQ ID NO：3  |
| A4  | SEQ ID NO：4  |
| A5  | SEQ ID NO：5  |
| A6  | SEQ ID NO：6  |
| A7  | SEQ ID NO：7  |
| A8  | SEQ ID NO：8  |
| A9  | SEQ ID NO：9  |
| A10 | SEQ ID NO：10 |

【0027】 請參照第 3a 圖所示，A1～A10 組之寡肽中，係以第 A2 組之寡肽可以測得最佳的丙烯醯胺強度值，因而選用第 A2 組之寡肽進行後續試驗。

【0028】 續針對前述之衍生試劑的濃度進行進一步之測試，係分別選用濃度為 0.1 mM（第 A2-1 組）、0.2 mM（第 A2-2 組）、0.5 mM（第 A2-3 組）、1 mM（第 A2-4 組）及 2 mM（第 A2-5 組）之衍生試劑，其餘試驗條件均如上所述。其結果如第 3b 圖所示，濃度為 0.5～2 mM 之衍生試劑均可以測得良好的丙烯醯胺強度值。

【0029】 （B）鹼催化劑的選擇

【0030】 本試驗係分別選用如第 2 表所示之鹼催化劑（濃度皆為 0.5

M)，其餘試驗條件均如上所述。

【0031】 第 2 表、本試驗各組之鹼催化劑

| 組別 | 鹼催化劑                                    |
|----|-----------------------------------------|
| B1 | 4-二甲氨基吡啶（4-dimethylaminopyridine）       |
| B2 | 咪唑（imidazole）                           |
| B3 | 三乙胺（triethylamine）                      |
| B4 | 碳酸氫銨（NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ） |
| B5 | 碳酸鉀（K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ）    |
| B6 | 碳酸氫鉀（KHCO <sub>3</sub> ）                |
| B7 | 氫氧化鈉（NaOH）                              |
| B8 | 氫氧化鉀（KOH）                               |

【0032】 請參照第 4a 圖所示，B1～B8 組之鹼催化劑中，係以第 B2 組之鹼催化劑可以測得最佳的丙烯醯胺強度值，證實咪唑確實能夠作為該鹼催化劑應用於該丙烯醯檢測方法。

【0033】 接著針對前述之鹼催化劑的濃度進行進一步之測試，係分別選用濃度為 0.01 M（第 B2-1 組）、0.05 M（第 B2-2 組）、0.1 M（第 B2-3 組）、0.5 M（第 B2-4 組）及 1 M（第 B2-5 組）之鹼催化劑，其餘試驗條件均如上所述。其結果如第 4b 圖所示，濃度為 0.1～1 M 之鹼催化劑均可以測得良好的丙烯醯胺強度值。

【0034】 （C）微波條件的選擇

【0035】 本試驗係分別選用 100 W（第 C2 組）、200 W（第 C3 組）、400 W（C4 組）及 800 W（第 C5 組）之功率，分別微波該待反應液 2 分鐘，另將該待反應液置於室溫下 2 分鐘（第 C1 組）作為比較，其餘試驗條件如上

所述；其結果如第 5a 圖所示，各組均可以測得良好的丙烯醯胺強度值。

【0036】 續以 100 W 之功率，分別微波該待反應液 1 分鐘（第 C2-1 組）、2 分鐘（第 C2-2 組）、4 分鐘（第 C2-3 組）、8 分鐘（第 C2-4 組）及 10 分鐘（C2-5 組），其餘試驗條件如上所述；其結果如第 5b 圖所示，各組均可以測得良好的丙烯醯胺強度值。

#### 【0037】 （D）基質的選擇

【0038】 本試驗係以  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸（ $\alpha$ -cyanol-4-hydroxy-cinnamic acid，簡稱 CHCA，第 D1 組）、二羥基苯甲酸（2,5-dihydroxybenzoic acid，簡稱 2,5-DHB，第 D2 組）、3,5-二甲氧基-4-羥基桂皮酸基桂皮酸（3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid，又稱為 sinapinic acid，簡稱 SA，第 D3 組）、3-氨基喹啉（3-aminoquinoline，簡稱 AQ，第 D4 組）及 2-羥基-1-萘甲酸（2-hydroxy-1-naphthoic acid，簡稱 HNA，第 D5 組）作為該基質，各組基質之濃度均為 10 mg/mL，其結果如第 6 圖所示，第 D2 組之 2,5-DHB 具有較佳之丙烯醯胺強度值。

#### 【0039】 （E）含丙烯醯之待測樣品的檢量線

【0040】 本試驗係配製含有濃度為 0.2  $\mu$ g/mL（第 E1 組）、1  $\mu$ g/mL（第 E2 組）、2  $\mu$ g/mL（第 E3 組）、5  $\mu$ g/mL（第 E4 組）、10  $\mu$ g/mL（第 E5 組）及 20  $\mu$ g/mL（第 E6 組）之待測樣品，其餘試驗條件如上所述，以 MALDI-TOF MS 進行分析之結果分別如第 7a~7f 圖所示，以各圖約於 748 m/z 位置之波峰（AA）與約於 751 m/z 位置之波峰（AA- $^{13}\text{C}3$ ）的相對面積比作為該丙烯醯胺強度值，經線性回歸計算獲得待測樣品之檢量線的線性回歸方程式為  $y=2063.6x-766.54$ （決定係數  $R^2=0.9998$ ），證實丙烯醯的於濃度介於 0.2 ~ 20  $\mu$ g/mL 範圍內之待測樣品的線性良好。

#### 【0041】 （F）市售樣品的測試結果

【0042】 本試驗係取包含液狀、乳液狀、乳霜狀等的五種市售化妝品，在經前處理後，以該丙烯醯胺檢測方法進行丙烯醯胺的含量分析，其含量分別為 49  $\mu\text{g/mL}$ 、41  $\mu\text{g/mL}$ 、44  $\mu\text{g/mL}$ 、38  $\mu\text{g/mL}$  及 75  $\mu\text{g/mL}$ ，證實本發明之丙烯醯胺檢測方法確實可以應用於呈液狀、乳液狀、乳霜狀等的待測樣品。

【0043】 綜合上述，本發明之用以檢測丙烯醯胺的寡肽，藉由該寡肽能夠直接與丙烯醯胺進行一衍生反應的特性，可以提升丙烯醯胺被辨識之辨識效率及專一性，因而僅以少量之待測樣品，即可以精確地被檢測，適用於難以取得、或較為高價之待測樣品，為本發明之功效。

【0044】 再者，本發明之丙烯醯胺檢測套組，除了可以藉由該寡肽提升丙烯醯胺被辨識之辨識效率及專一性外，更可以藉由咪唑所提供的鹼性環境，可以進一步促進該衍生反應的進行，為本發明之功效。

【0045】 此外，本發明之丙烯醯胺檢測方法，藉由該寡肽的使用，可以提升丙烯醯胺被辨識之辨識效率及專一性，因而僅以少量之待測樣品，即可以精確地被檢測，適用於難以取得、或較為高價之待測樣品；再者可以使該丙烯醯胺衍生物形成該氣相離子，並且根據質荷比分析器偵測該氣相離子之質荷比，進而計算出該待測樣品中是否含有丙烯醯胺，可以大幅減少檢測及分析之時間，達到快速待測樣品篩檢之功效；再且，由於僅使用少量之有機溶媒，可以減少檢測過程中產生之大量有機廢液，進而達到減少環境污染之功效。

【0046】 雖然本發明已利用上述較佳實施例揭示，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者在不脫離本發明之精神和範圍之內，相對上述實施例進行各種更動與修改仍屬本發明所保護之技術範疇，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【符號說明】

【0047】

S1:樣品提供步驟

S2:衍生步驟

S3:分析步驟

SEQUENCE LISTING

<110> 高雄醫學大學

<120> 用以檢測丙烯醯胺的寡肽、套組及方法

<130>

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 1

Ala Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Arg

1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Arg

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Arg  
1 5

<210> 4  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡肽

<400> 4

Gly Gly Gly Gly His Gly Gly Gly Arg  
1 5

<210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡肽

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly  
1 5

<210> 6  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡肽

<400> 6

Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly  
1 5

<210> 7  
<211> 9  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 7

Gly Gly Gly Gly His Gly Gly Gly Gly  
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys  
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Asp  
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 10

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu



## 【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種用以檢測丙烯醯胺的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：2 所示之胺基酸序列。

【請求項 2】 一種丙烯醯胺檢測套組，用以檢測一待測樣品是否包含丙烯醯胺，係包含：

如請求項 1 之用以檢測丙烯醯胺的寡肽，用以與該待測樣品中的丙烯醯胺進行一衍生反應以形成一丙烯醯胺衍生物；及

咪唑，用以提供進行該衍生反應的一鹼性環境。

【請求項 3】 一種丙烯醯胺檢測方法，係包含：

提供一待測樣品，包含濃度介於  $0.2 \sim 20 \mu\text{g/mL}$  之間的丙烯醯胺；

混合該待測樣品、咪唑，及如請求項 1 之寡肽，使該寡肽與該待測樣品所含有之丙烯醯胺進行一衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液含有一丙烯醯胺衍生物；及

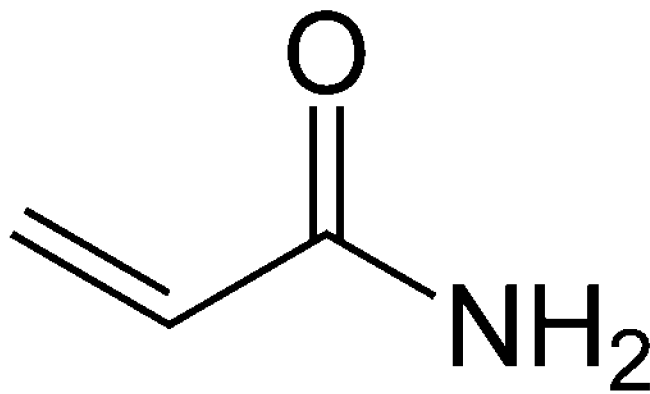
使該衍生溶液與一基質形成一結晶狀固態物，以一雷射光束離子化該衍生溶液中的丙烯醯胺衍生物，使該丙烯醯胺衍生物形成一氣相離子，並以一質荷比分析器檢測該氣相離子，以獲得一丙烯醯胺強度值；

其中，該寡肽的濃度為  $0.5 \sim 2 \text{ mM}$ ，咪唑的濃度為  $0.1 \sim 1 \text{ M}$ ，該基質為  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸或二羥基苯甲酸。

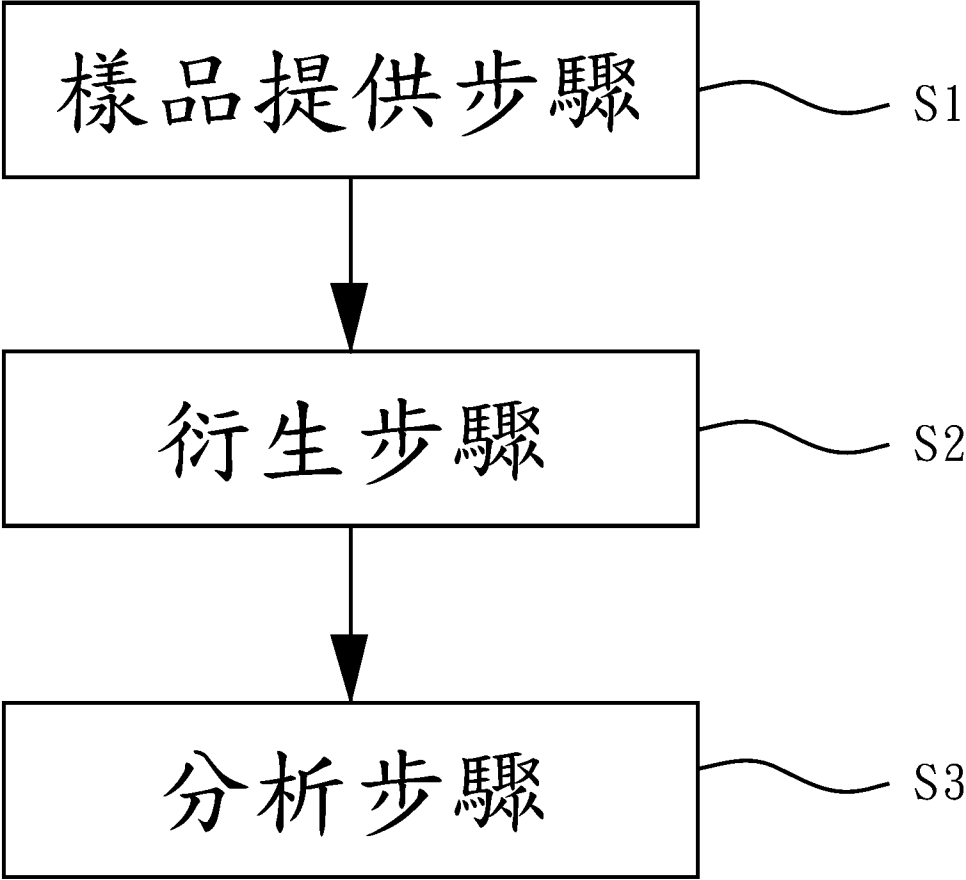
【請求項 4】 如請求項 3 之丙烯醯胺檢測方法，其中，係以微波方式提供一能量，使該衍生反應得以進行。

【請求項 5】 如請求項 4 之丙烯醯胺檢測方法，其中，係以  $100 \sim 800 \text{ W}$  之功率微波  $1 \sim 10$  分鐘，使該衍生反應得以進行。

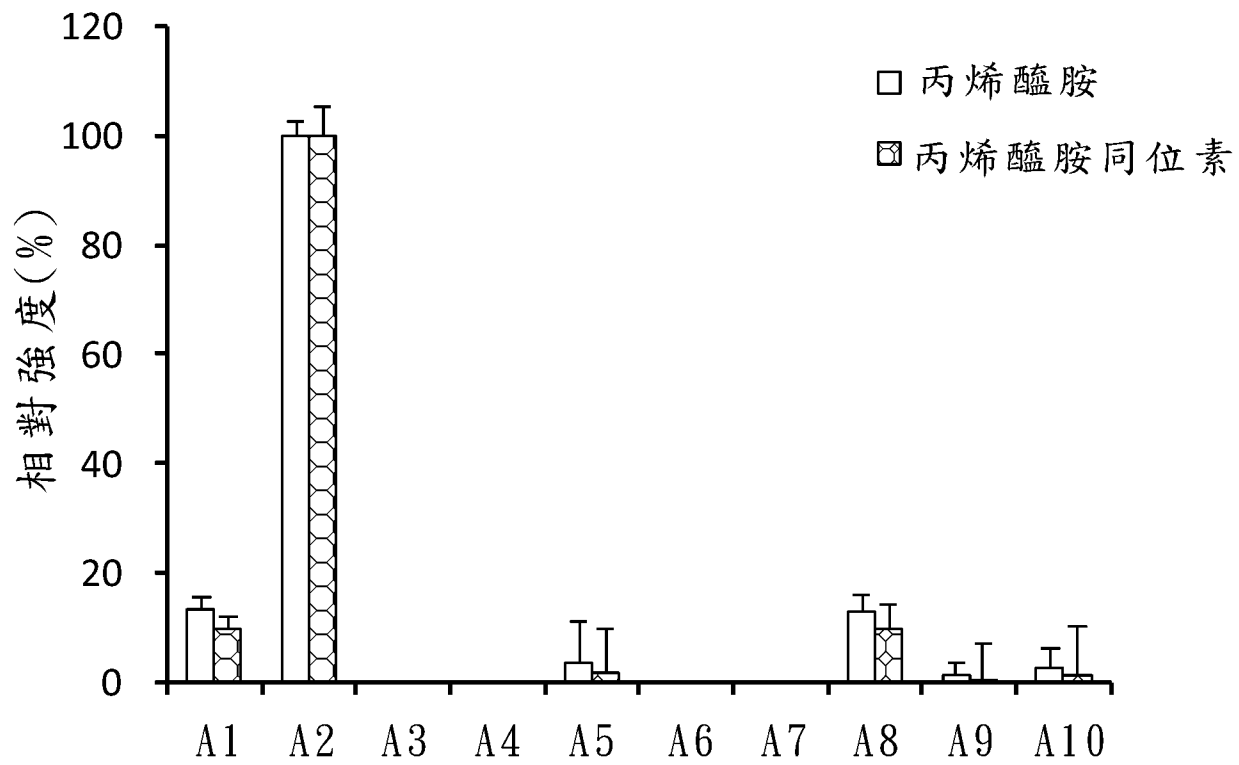
## 【發明圖式】



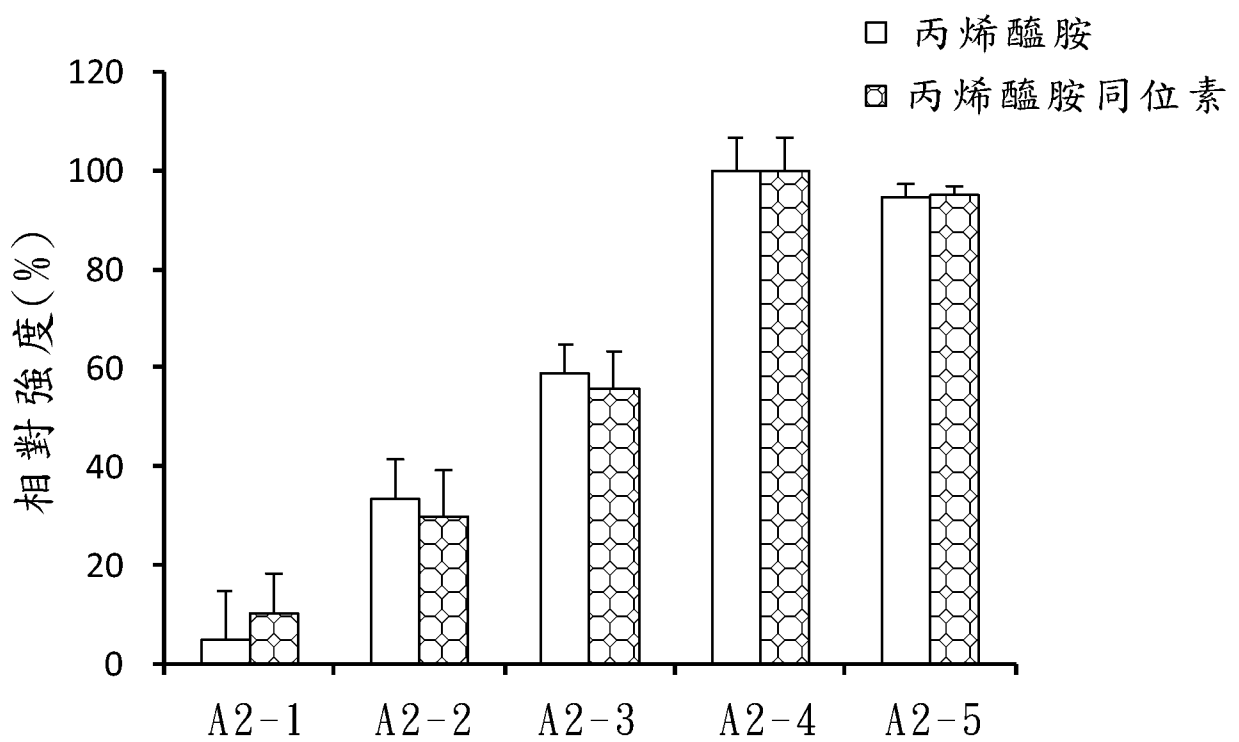
【第 1 圖】



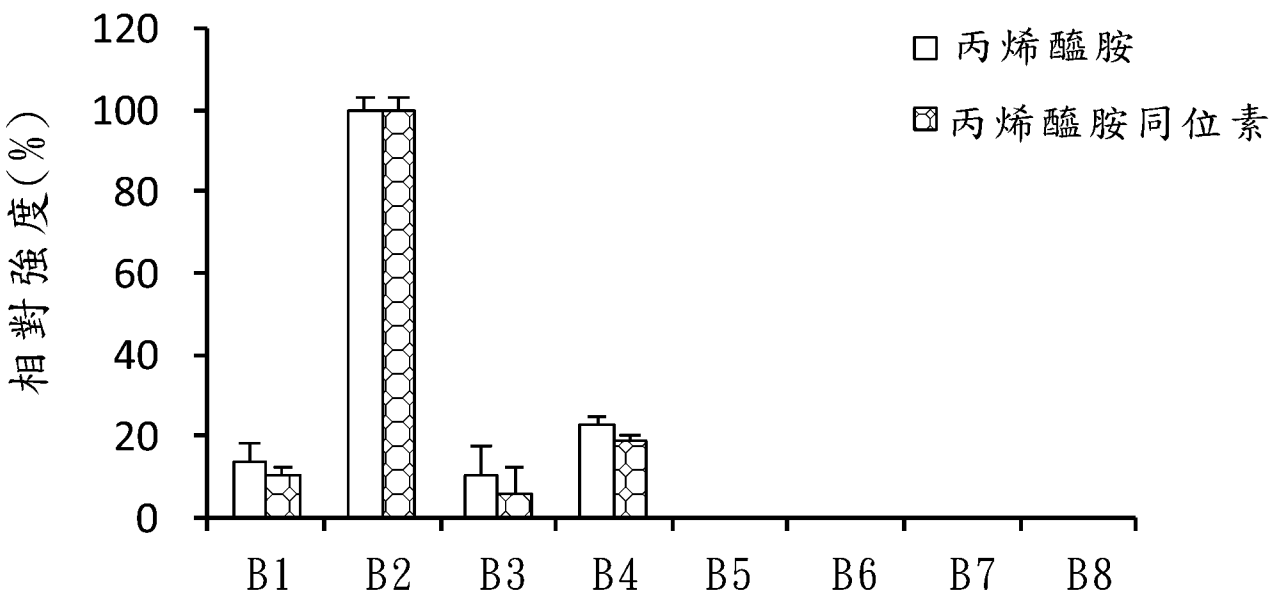
【第 2 圖】



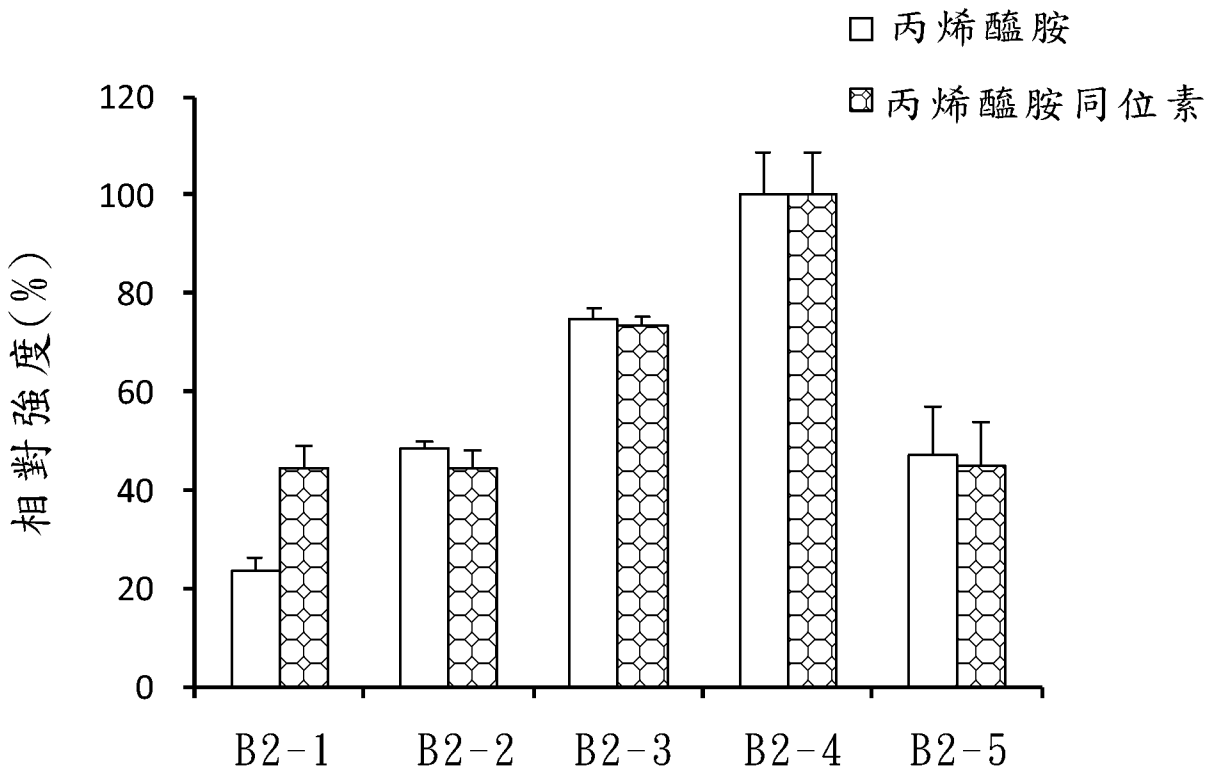
【第 3a 圖】



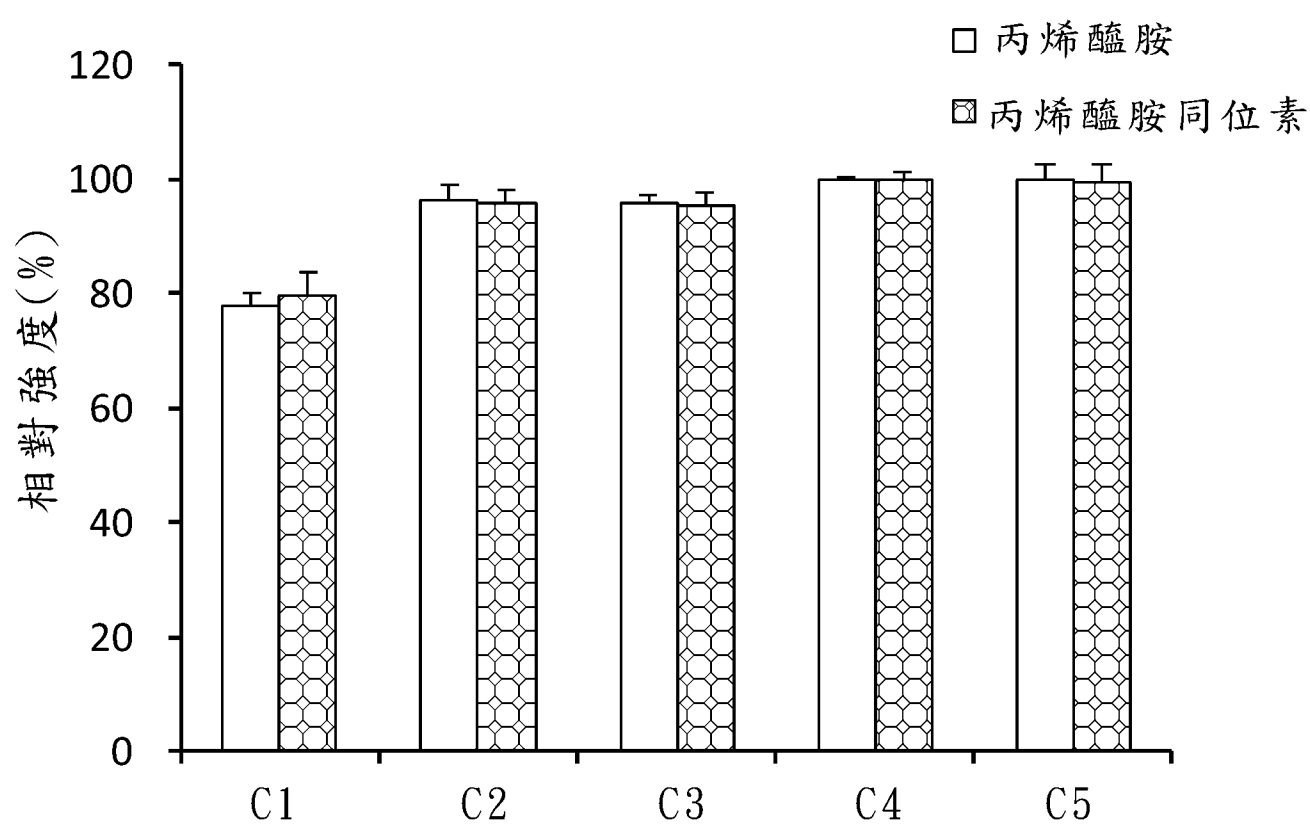
【第 3b 圖】



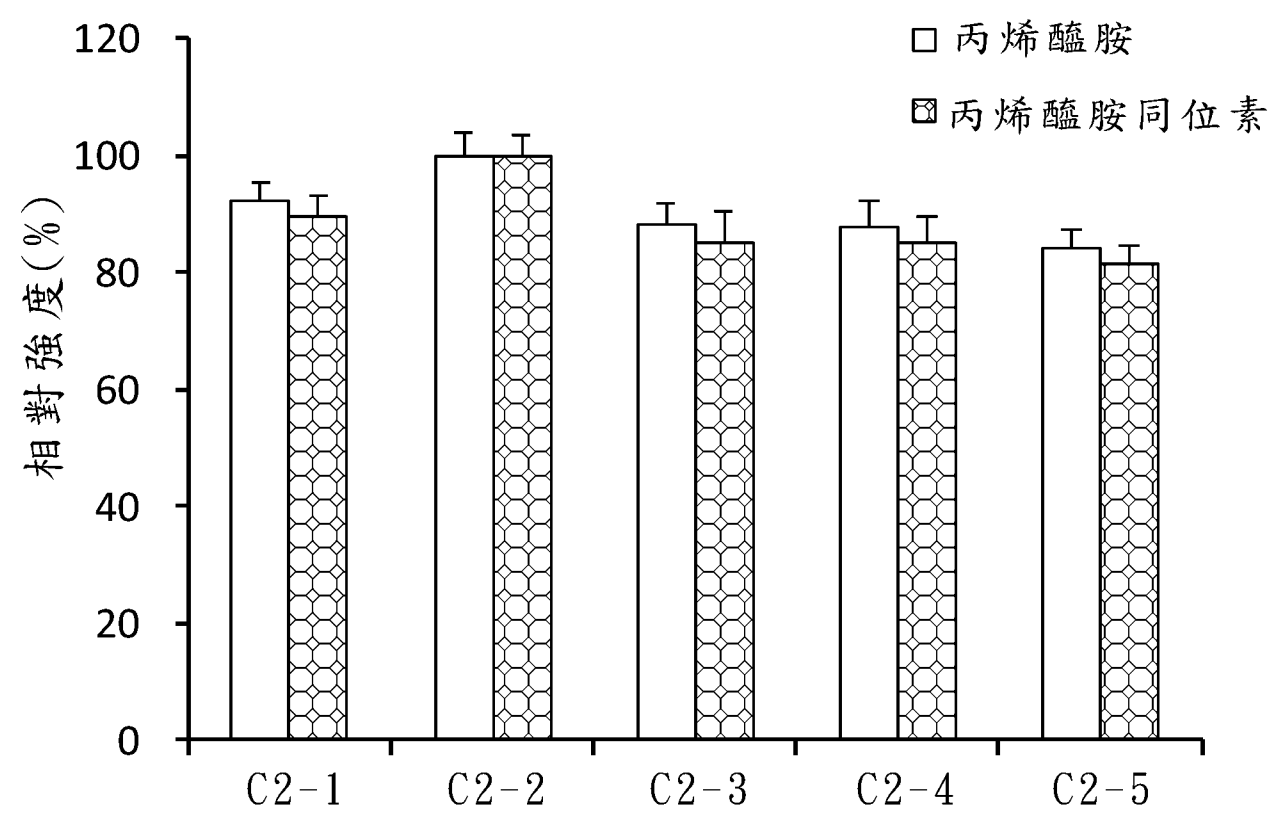
【第 4a 圖】



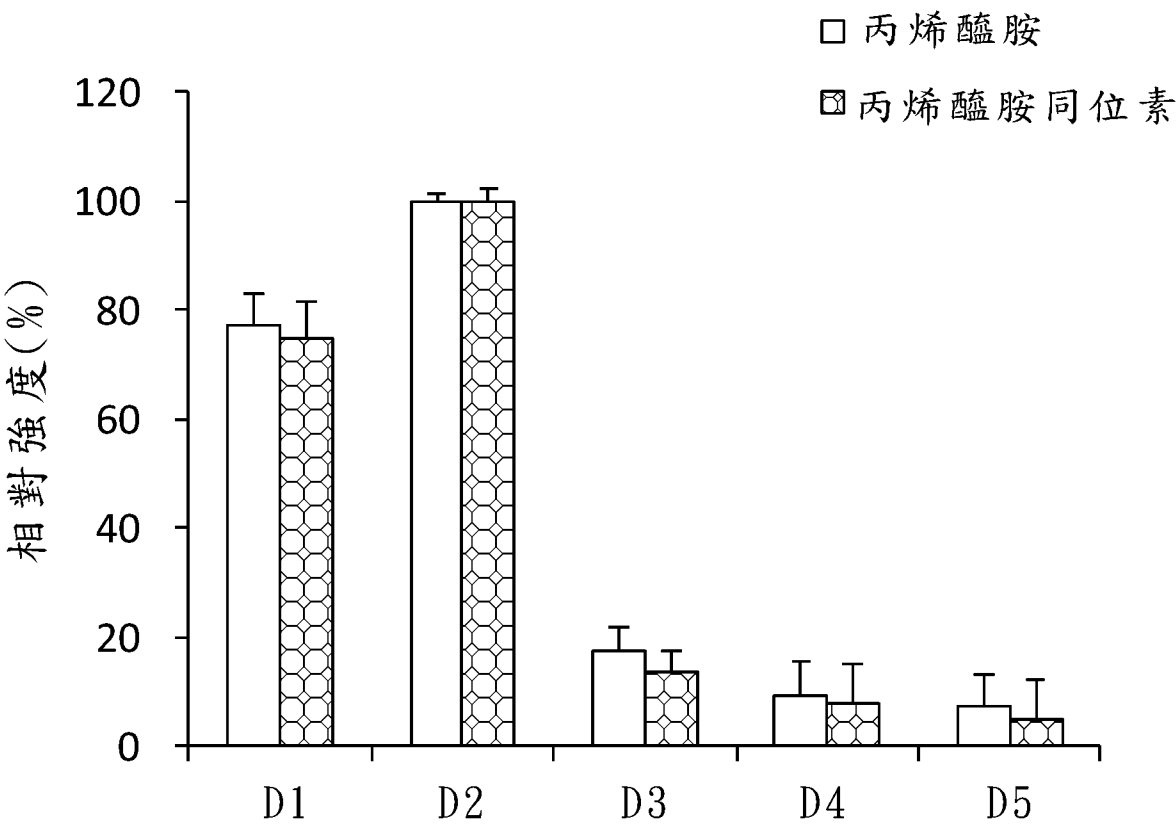
【第 4b 圖】



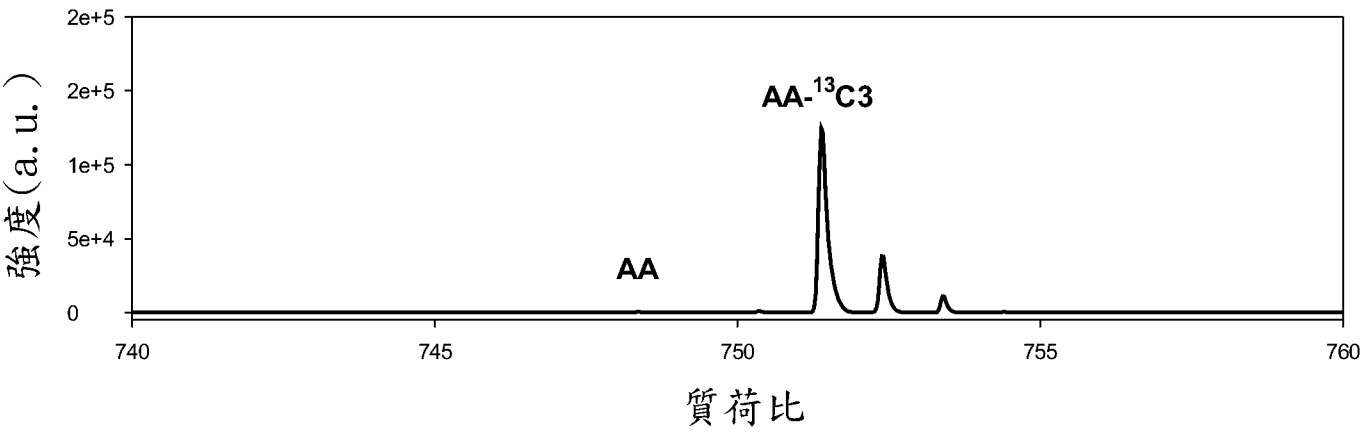
【第 5a 圖】



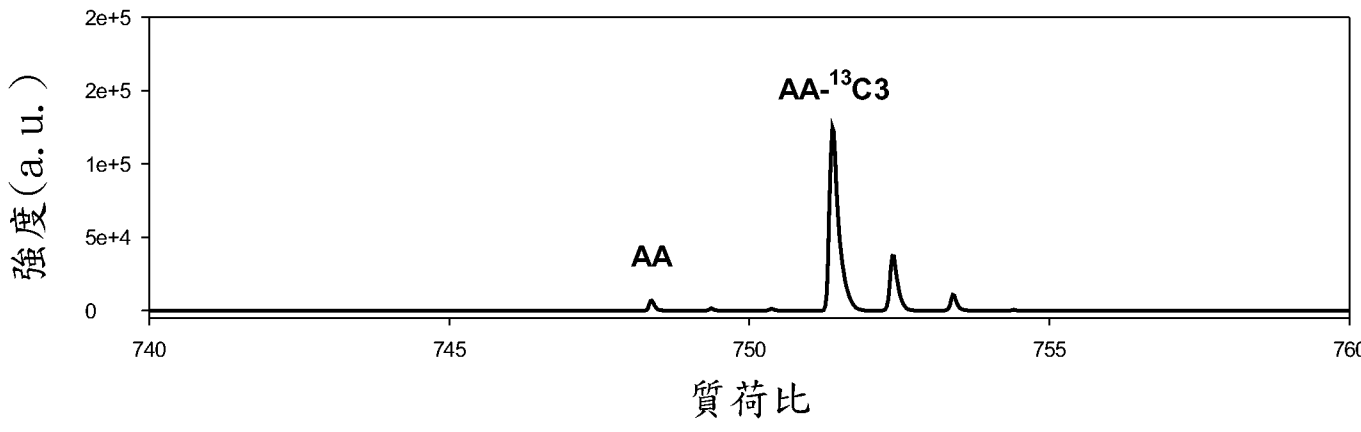
【第 5b 圖】



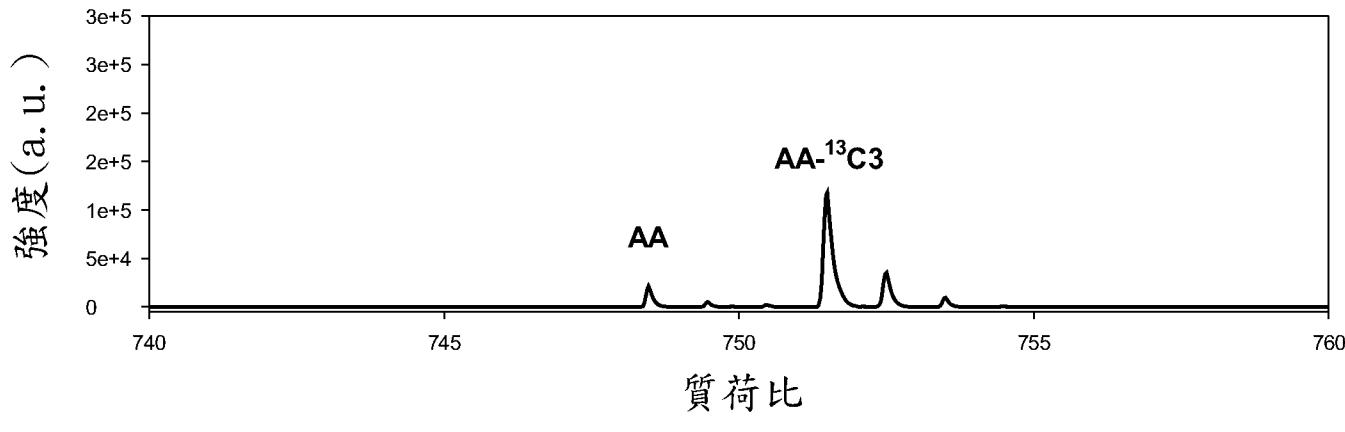
【第 6 圖】



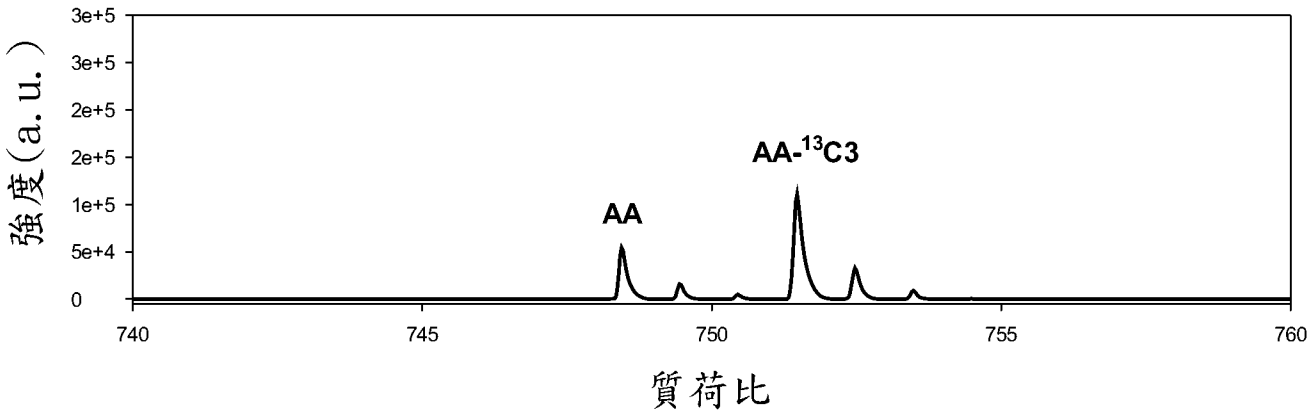
【第 7a 圖】



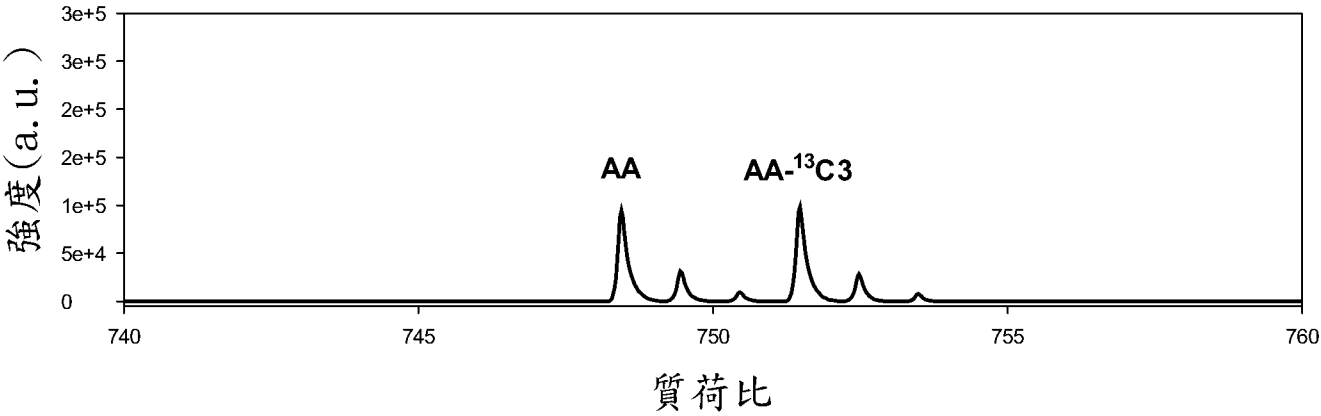
【第 7b 圖】



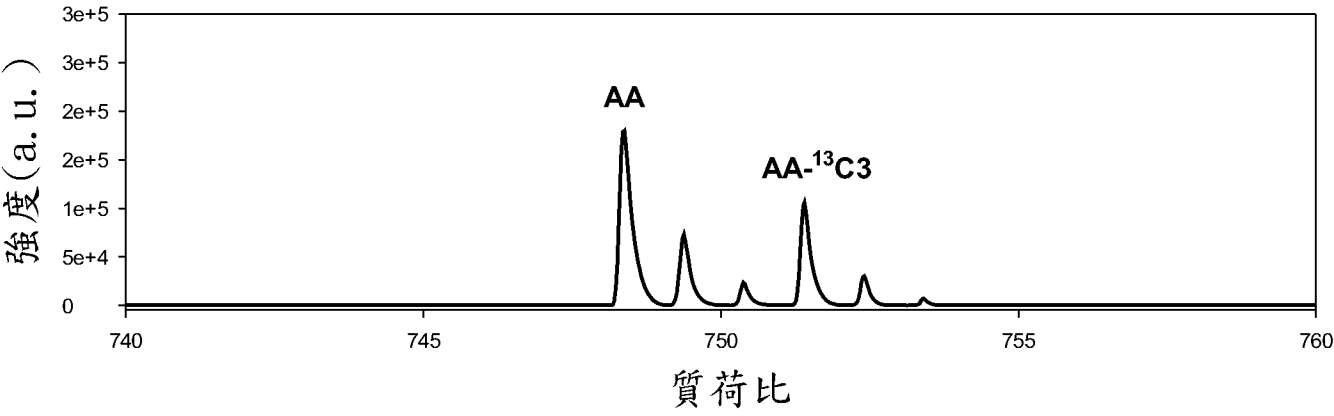
【第 7c 圖】



【第 7d 圖】



【第 7e 圖】



【第 7f 圖】