



(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 I727640 B

(45) 公告日：中華民國 110 (2021) 年 05 月 11 日

(21) 申請案號：109103206

(22) 申請日：中華民國 109 (2020) 年 02 月 03 日

(51) Int. Cl. : G01N33/68 (2006.01)

C07K7/06 (2006.01)

G01N30/72 (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：

TW 201802107A

CN 106124664A

CN 107051147A

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：10 共 29 頁

(54) 名稱

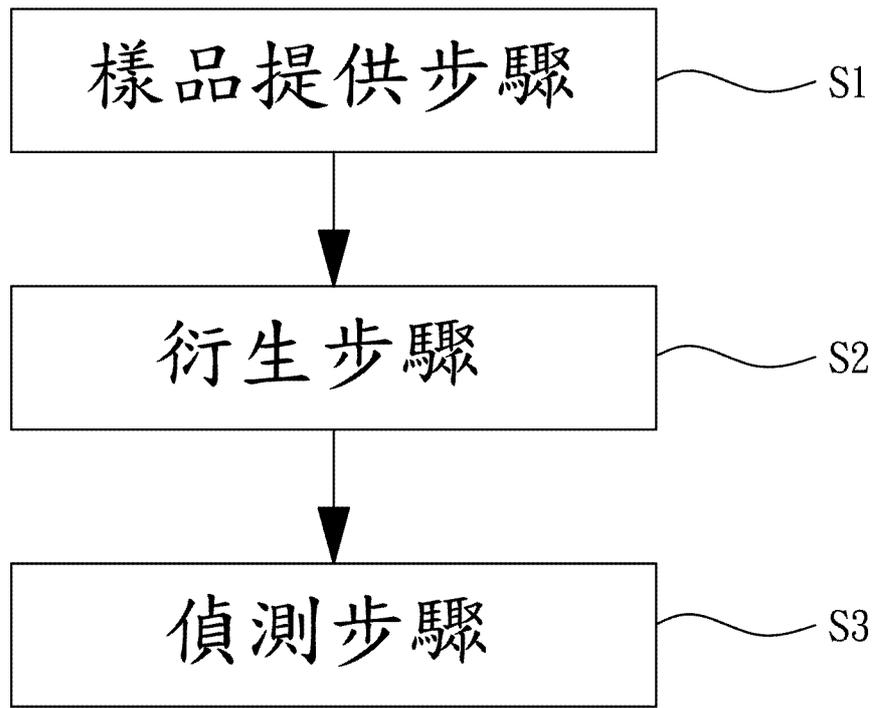
用以檢測甲醛的寡肽、套組及方法

(57) 摘要

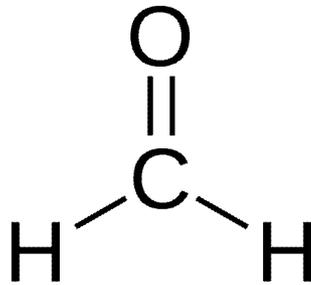
一種用以檢測甲醛的寡肽，係應用於檢測一待測樣品中的甲醛。該寡肽包含如 SEQ ID NO: 1 所示之胺基酸序列。本發明另關於包含該寡肽的套組，以及使用該寡肽以檢測甲醛的方法。

An oligopeptide is used for detecting formaldehyde in a sample. The oligopeptide includes an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 1. A kit including the oligopeptide, as well as a method for detecting formaldehyde using the oligopeptide, is also disclosed.

指定代表圖：

**【第 2 圖】**

特徵化學式：





I727640

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 用以檢測甲醛的寡肽、套組及方法

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

Formaldehyde

## 【中文】

一種用以檢測甲醛的寡肽，係應用於檢測一待測樣品中的甲醛。該寡肽包含如 SEQ ID NO：1 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甲醛的方法。

## 【英文】

An oligopeptide is used for detecting formaldehyde in a sample. The oligopeptide includes an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 1. A kit including the oligopeptide, as well as a method for detecting formaldehyde using the oligopeptide, is also disclosed.

【指定代表圖】 第 2 圖

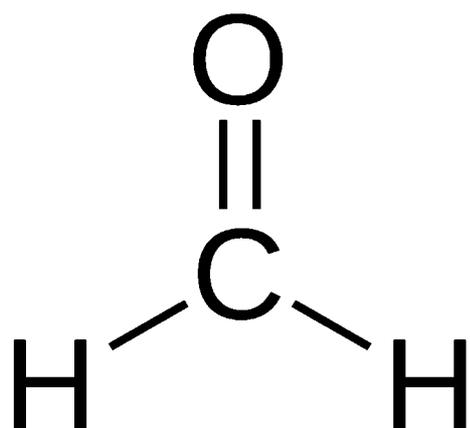
【代表圖之符號簡單說明】

S1:樣品提供步驟

S2:衍生步驟

S3:偵測步驟

【特徵化學式】



甲醛 ( formaldehyde )

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 用以檢測甲醛的寡肽、套組及方法

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

Formaldehyde

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種寡肽，特別是一種用以檢測甲醛的寡肽。本發明另關於一種包含該寡肽的套組，以及利用該寡肽以檢測甲醛的方法。

### 【先前技術】

【0002】 甲醛（formaldehyde）為一種無色的刺激性氣體，其被廣泛用於工業生產中，為製造合成樹脂、油漆、塑料及人造纖維的原料，也是製造人造板材所使用的黏合劑的重要原料。

【0003】 甲醛並非劇毒（acutely toxic），但是若是長期吸入空氣中的甲醛則可能會引起頭痛（headache）、喉嚨灼熱感（burning sensation in the throat）或呼吸困難（difficulty breathing）等症狀，並可能會觸發或加重哮喘（asthma）症狀。再者，甲醛屬於國際癌症研究機構（IARC）所認定的與鼻竇癌（nasal sinus cancer）、鼻咽癌（nasopharyngeal cancer）相關的已知人類致癌物（known human carcinogen），且研究更指出，甲醛的暴露會提升白血病（leukemia）與腦癌（brain cancer）的罹患風險，因此確實必要進行環境中濃度之監控，以避免誘發毒性或其他副作用之產生。

### 【發明內容】

【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甲醛

的寡肽，其能夠直接與甲醛發生衍生反應，而能夠應用於檢測甲醛者。

【0005】 本發明的另一目的係提供一種用以檢測甲醛的套組，係包含前述之寡肽者。

【0006】 本發明的再一目的係提供一種用以檢測甲醛的方法，係搭配使用前述之寡肽者。

【0007】 本發明全文所述方向性或其近似用語，例如「前」、「後」、「左」、「右」、「上（頂）」、「下（底）」、「內」、「外」、「側面」等，主要係參考附加圖式的方向，各方向性或其近似用語僅用以輔助說明及理解本發明的各實施例，非用以限制本發明。

【0008】 本發明全文所記載的元件及構件使用「一」或「一個」之量詞，僅是為了方便使用且提供本發明範圍的通常意義；於本發明中應被解讀為包括一個或至少一個，且單一的概念也包括複數的情況，除非其明顯意指其他意思。

【0009】 本發明全文所述「結合」、「組合」或「組裝」等近似用語，主要包含連接後仍可破壞構件地分離，或是連接後使構件不可分離等型態，係本領域中具有通常知識者可以依據欲相連之構件材質或組裝需求予以選擇者。

【0010】 本發明提供一種用以檢測甲醛的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列；如此，本發明之用以檢測甲醛的寡肽，藉由該寡肽能夠直接與甲醛進行一衍生反應的特性，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。

【0011】 基於相同的技術概念下，本發明另提供一種用以檢測甲醛的套組，係包含：上述之用以檢測甲醛的寡肽，該寡肽能夠與一待測樣品中的甲醛進行一衍生反應以形成一甲醛衍生物；及碳酸氫銨，係用以提供進行該衍

生反應的一鹼性環境；如此，除了可以藉由該寡肽提升甲醛被辨識之辨識效率及專一性外，更可以藉由碳酸氫銨所提供的鹼性環境，可以進一步促進該衍生反應的進行，為本發明之功效。

**【0012】** 又，本發明另提供一種用以檢測甲醛的方法，係包含：一待測樣品提供步驟，提供含有甲醛的一待測樣品；一衍生步驟，係混合該待測樣品、碳酸氫銨及上述之用以檢測甲醛的寡肽，於該鹼劑提供的一鹼性環境中，使該寡肽與該待測樣品所含有之甲醛進行一衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液含有一甲醛衍生物；及一偵測步驟，係偵測該衍生溶液中的甲醛衍生物，以獲得一訊號波。

**【0013】** 據此，本發明之用以檢測甲醛的方法，藉由該寡肽的使用，可以提升甲醛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。

**【0014】** 本發明的用以檢測甲醛的方法，其中，該偵測步驟中，係以液相層析法串聯質譜分析法偵測該衍生溶液，以獲得該訊號波；如此，僅需要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。

**【0015】** 本發明的用以檢測甲醛的方法的偵測步驟中，可以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甲醛衍生物，使該甲醛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，以獲得該訊號波；如此，可以使該甲醛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甲醛，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，僅需要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。

【0016】 本發明的用以檢測甲醛的方法的偵測步驟中，該基質可以為  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸；如此可以使所獲得的訊號波具有較佳的強度。

【0017】 本發明的用以檢測甲醛的方法的衍生步驟中，係能夠以微波方式提供一能量（例如以 600~800 W 的功率微波 3~5 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】

#### 【0018】

- 〔第 1 圖〕 甲醛的化學結構式。
- 〔第 2 圖〕 本實施例之用以檢測甲醛的方法之流程圖。
- 〔第 3 圖〕 本實施例所使用的濃縮管柱之立體分解圖。
- 〔第 4 圖〕 第 3 圖所示的濃縮管柱之側視剖面圖。
- 〔第 5a 圖〕 試驗（A）中，具有不同胺基酸序列的寡肽的測試長條圖。
- 〔第 5b 圖〕 試驗（A）中，不同濃度的寡肽的測試長條圖。
- 〔第 6a 圖〕 試驗（B）中，不同種類的鹼劑的測試長條圖。
- 〔第 6b 圖〕 試驗（B）中，不同濃度的鹼劑的測試長條圖。
- 〔第 7a 圖〕 試驗（C）中，不同的微波瓦數的測試長條圖。
- 〔第 7b 圖〕 試驗（C）中，不同的微波時間的測試長條圖。
- 〔第 8 圖〕 試驗（D）中，不同種類的基質的測試長條圖。
- 〔第 9a 圖〕 試驗（E）中，濃度為 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。
- 〔第 9b 圖〕 試驗（E）中，濃度為 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。
- 〔第 9c 圖〕 試驗（E）中，濃度為 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS

分析結果。

〔第 9d 圖〕 試驗 (E) 中，濃度為 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 9e 圖〕 試驗 (E) 中，濃度為 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 9f 圖〕 試驗 (E) 中，濃度為 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 MALDI-TOF MS 分析結果。

〔第 10 圖〕 試驗 (F) 中，濃度為 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之待測樣品的 LC-MS 分析結果。

### 【實施方式】

【0019】 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：

【0020】 請參照第 2 圖所示，本發明之用以檢測甲醛的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，該待測樣品含有甲醛，一衍生步驟 S2，係使該待測樣品所含有之甲醛與一衍生試劑進行一衍生反應，使該待測樣品所含有之甲醛形成一甲醛衍生物；及一偵測步驟 S3，係分析該甲醛衍生物，以獲得一訊號波。

【0021】 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甲醛者，例如塑合板、膠合板等人造板材；衣物、毛巾等紡織品；衛生紙、濕紙巾、紙尿褲等紙製品；塑膠免洗餐具、美耐皿餐具等食品容器，甚至是存放有人造板材、紡織品、紙製品、食品容器等的環境中的空氣，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。

【0022】 此外，該待測樣品可以一前處理步驟所獲得。舉例而言，針對一固態樣品或一液態樣品，可以直接將該固態樣品（或該液態樣品）置於如

第 3、4 圖所示的一濃縮管柱 1 的一集液區 R1，以進行濃縮而可以獲得該待測樣品；又，針對一氣態樣品，則可以藉由一高壓泵將該氣態樣品打入裝於該集液區 R1 的水中，後續進行濃縮而可以獲得該待測樣品。

【0023】請參照第 3、4 圖所示，該濃縮管柱 1 包含一收集管 11 及一容槽 12，該收集管 11 的相對二端分別為一開口端 11a 及一封閉端 11b，且該收集管 11 的內周壁設有一抵靠部 111，該抵靠部 111 位於該開口端 11a 及該封閉端 11b 之間，以將該收集管 11 的內部空間分隔為該集液區 R1 及一容置區 R2，該集液區 R1 鄰近該封閉端 11b，且該容置區 R2 鄰近該開口端 11a。該容槽 12 經由該開口端 11a 置入該收集管 11 中時，該容槽 12 的底壁 121 可以抵靠於該抵靠部 111，進而定位於該容置區 R2 中，且該容置區 R2 的下方即為該集液區 R1。

【0024】該容槽 12 內部具有一置液區 R3，且該容槽 12 的底壁 121 具有貫穿該底壁 121 的至少一通孔 122，使當該容槽 12 定位於該容置區 R2 時，容置於該置液區 R3 中的水可以經由該至少一通孔 122 流向該收集管 11 的集液室 R1。值得注意的是，該容槽 12 內部還設有一過濾膜 123，該過濾膜 123 覆蓋該底壁 122，該過濾膜 122 為甲醛氣體分子可以自由通過，但容置於該置液區 R3 中的水則必須要藉由外力（例如，離心所提供的外力）才能夠通過的半透膜，如此置於該集液區 R1 的固態樣品（或液態樣品）所產生的甲醛氣體分子可以自由通過該過濾膜 123，進而溶於容置於該置液區 R3 中的水中，工者接著能夠以另一個收集管 11 取代原本的收集管 11 之後，再藉由離心使溶有甲醛的水通過該過濾膜 123，並經由該至少一通孔 122 流向該收集管 11，而可以被收集於該集液室 R1 中。

【0025】因此，工者在使用該濃縮管柱 1 時，係先使該容槽 12 定位於該容置區 R2 中，並於該置液區 R3 中裝入水（100  $\mu$ L），及將該固態樣品（或

該液態樣品；或溶有該氣態樣品的水）置入該容槽 11 的集液區 R1，續加熱該集液區 R1，使甲醛形成甲醛氣體分子而能夠自由通過該過濾膜 123，進而溶於該置液區 R3 中的水，接著將該濃縮管柱 1 置入離心機中，以 13,000 rpm 的轉速離心 10 分鐘，使位於該置液區 R3 中，溶有甲醛的水可以通過該過濾膜 123，而被收集於另一個收集管 1 的集液區 R1 中，最終取收集自該集液區 R1 中的水作為該待測樣品（50  $\mu$ L），並進行後續衍生步驟 S2。

【0026】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：1 所示之胺基酸序列，且溶於水中（濃度為 0.05~0.1 mg/mL）。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甲醛進行該衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液係含有該甲醛衍生物，例如可以利用微波方式施予該能量，使該衍生反應得以進行，本實施例中，係使用功率為 600~800 W 之微波爐，對該待反應液微波 3~5 分鐘，即可以使甲醛及該寡肽進行該衍生反應而獲得該衍生溶液。

【0027】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劑，舉例而言，該鹼劑可以為碳酸氫銨，於本實施例中，該鹼劑係選擇為濃度為 10~100 mM 之碳酸氫銨。

【0028】該偵測步驟 S3 中，工者可以利用各種習知方法來偵測該衍生溶液中的甲醛衍生物，以獲得該訊號波，並依據該至少訊號波的波峰面積（peak area）來評估該待測樣品中的甲醛的含量多寡。

【0029】於一實施例中，工者係能夠以液相層析法串聯質譜分析法（liquid chromatography-mass spectrometry，簡稱 LC-MS）進行偵測。詳而言之，係使用奈米超效能液相層析系統（nanoUPLC）搭配傅立葉變換質譜儀（LTQ Orbitrap Discovery hybrid Fourier Transform Mass Spectrometer）的串

聯式質譜儀法 (tandem mass spectrometry) 進行，其中該立葉變換質譜儀係設定為正離子模式(positive ion mode)及奈米噴灑離子源(nanospray source)，該離子源、鏡筒透鏡 (tube lens) 及毛細管 (capillary) 的電壓分別設定為 2.3 kV、95V 及 37 V，噴灑毛細管的溫度為 200°C，掃描區間為 200~1,800 m/z (解析度為 30,000)，鎖質量離子 (lock mass ion) 的分子量為 445.12 m/z。又，固定相為 C18 管柱 (symmetry C18, 5 μm, 180 μm×20 mm, 及 BEH C18, 1.7 μm, 75 μm×150 mm)，流動相係如第 2 表所示，以 300 nL/min 的流速沖提 60 分鐘。

【0030】 第 2 表、流動相的沖提條件

沖提時間	流速	流動相的體積比	
		A 溶液 <sup>1</sup> (%)	B 溶液 <sup>2</sup> (%)
	300	99	1
1	300	88	12
20	300	55	45
30	300	15	85
35	300	15	85
45	300	99	1
60	300	99	1

<sup>1</sup>：A 溶液為含 0.1%的甲酸 (formic acid) 的水溶液。

<sup>2</sup>：B 溶液為含濃度為 0.1%的甲酸的乙腈 (acetonitrile, 簡稱 ACN) 溶液。

【0031】 於另一實施例中，工者亦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）。

【0032】 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訊號波；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。

【0033】 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，本實施例用以檢測甲醛的方法則係藉由該衍生步驟 S2 大幅放大甲醛之訊號，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。

【0034】 為證實本實施例之用以檢測甲醛的方法係能夠用以檢測待測樣品中所含之甲醛含量，遂配製濃度為 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之甲醛作為標準品（溶於水）；續混合體積分別為為 50  $\mu\text{L}$  之甲醛、10  $\mu\text{L}$  之鹼劑（碳酸氫銨，濃度為

50 mM) 及 10  $\mu$ L 之寡肽 (溶於水, 濃度為 0.1 mg/mL), 以微波方式進行加熱 (功率為 800 W、微波時間為 5 分鐘), 促進該衍生反應之進行, 續將 0.5  $\mu$ L 之衍生溶液點於該樣品托盤後, 以 0.5  $\mu$ L 之基質 (CHCA) 覆蓋於其上, 係以 MALDI-TOF MS 進行分析, 以獲得該訊號波, 並進行下列試驗:

**【0035】** (A) 衍生試劑的選擇

**【0036】** 本試驗各組之衍生試劑 (濃度皆為 1 mg/mL) 係分別選用如第 3 表所示之寡肽, 其餘試驗條件均如上所述。

**【0037】** 第 3 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

**【0038】** 請參照第 5a 圖所示, A1~A10 組之寡肽中, 係以第 A1 組之寡肽可以測得最佳的訊號波, 因而選用第 A1 組之寡肽進行後續試驗。

**【0039】** 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 0.01 mg/mL (第 A1-1 組)、0.05 mg/mL (第 A1-2 組)、0.1 mg/mL (第 A1-3 組)、0.5 mg/mL (第 A1-4 組) 及 1 mg/mL (第 A1-5 組) 之衍生試劑, 其餘試驗條件均如上所述。其結果如第 5b 圖所示, 濃度為 0.05~0.1 mg/mL 之衍生試劑均可以測得良好的訊號波。

**【0040】** (B) 鹼劑的選擇

**【0041】** 本試驗係分別選用如第 4 表所示之鹼劑 (濃度皆為 10 mM),

其餘試驗條件均如上所述。

**【0042】** 第 4 表、本試驗各組之鹼劑

組別	鹼劑
B1	碳酸氫銨 ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ )
B2	碳酸氫鈉 ( $\text{NaHCO}_3$ )
B3	碳酸鈉 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
B4	氫氧化鈉 ( $\text{NaOH}$ )

**【0043】** 請參照第 6a 圖所示，B1~B4 組之鹼劑中，係以第 B1 組之鹼劑可以測得最佳的訊號波，證實碳酸氫銨確實能夠作為該鹼劑應用於該用以檢測甲醛的方法。

**【0044】** 接著針對前述之鹼劑的濃度進行進一步之測試，係分別選用濃度為 1 mM (第 B1-1 組)、10 mM (第 B1-2 組)、50 mM (第 B1-3 組) 及 100 mM (第 B1-4 組) 之鹼劑，其餘試驗條件均如上所述。其結果如第 6b 圖所示，濃度為 10~100 mM 之鹼劑均可以測得良好的訊號波。

**【0045】** (C) 微波條件的選擇

**【0046】** 本試驗係分別選用 200 W (第 C1 組)、400 W (第 C2 組)、600 W (C3 組) 及 800 W (第 C4 組) 之功率，分別微波該待反應液 5 分鐘，其餘試驗條件如上所述；其結果如第 7a 圖所示，以 600~800 W 的功率進行微波均可以測得良好的訊號波。

**【0047】** 續以 800 W 之功率，分別微波該待反應液 2 分鐘 (第 C4-1 組)、3 分鐘 (第 C4-2 組)、4 分鐘 (第 C4-3 組) 及 5 分鐘 (第 C4-4 組)，其餘試驗條件如上所述；其結果如第 7b 圖所示，微波 3~5 分鐘均可以測得良好的訊號波。

**【0048】** (D) 基質的選擇

【0049】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)、2-氫硫基苯酸 (2-mercaptobenzoic acid, 簡稱 2-MBA, 第 D4 組) 及 2-巯苯并噻唑 (2-mercaptobenzothiazole, 簡稱 2-MBT, 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 D1 組之 CHCA 具有較佳之訊號波。

【0050】(E) 含甲醛之待測樣品的檢量線

【0051】本試驗係配製含有濃度為 100  $\mu\text{g/mL}$  (第 E1 組)、50  $\mu\text{g/mL}$  (第 E2 組)、25  $\mu\text{g/mL}$  (第 E3 組)、10  $\mu\text{g/mL}$  (第 E4 組)、5  $\mu\text{g/mL}$  (第 E5 組) 及 1  $\mu\text{g/mL}$  (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 9a~9f 圖所示, 以各圖約於 755 m/z 位置之波峰作為該訊號波, 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  $y = 0.0095x - 0.0091$  (決定係數  $R^2 = 0.999$ ), 證實甲醛於濃度介於 1 ~ 100  $\mu\text{g/mL}$  範圍內之待測樣品的線性良好。

【0052】(F) LC-MS 的分析結果

【0053】本試驗係配製含有濃度為 10  $\mu\text{g/mL}$  之待測樣品, 其餘試驗條件如上所述, 以 LC-MS 進行分析之結果如第 10 圖所示, 於約 16.9 分鐘的位置確實存在該訊號波, 證實本發明之用以檢測甲醛的方法亦能夠以 LC-MS 進行分析。

【0054】綜合上述, 本發明之用以檢測甲醛的寡肽, 藉由該寡肽能夠直接與甲醛進行一衍生反應的特性, 可以提升甲醛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。

【0055】再者，本發明之用以檢測甲醛的套組，除了可以藉由該寡肽提升甲醛被辨識之辨識效率及專一性外，更可以藉由碳酸氫銨所提供的鹼性環境，可以進一步促進該衍生反應的進行，為本發明之功效。

【0056】此外，本發明之用以檢測甲醛的方法，藉由該寡肽的使用，可以提升甲醛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。

【0057】又，本發明之用以檢測甲醛的方法更可以使該甲醛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甲醛，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。

【0058】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】

#### 【0059】

〔本發明〕

1:濃縮管柱

11:收集管

11a:開口端

11b:封閉端

111:抵靠部

12:容槽

121:底壁

122:通孔

123:過濾膜

R1:集液區

R2:容置區

R3:置液區

S1:樣品提供步驟

S2:衍生步驟

S3:偵測步驟

## 序列表

<110> 高雄醫學大學

<120> 用以檢測甲醛的寡肽、套組及方法

<160> 6

<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 Ala 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 Gly Gly Gly Gly Arg

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 3

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys

1 5

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

<220>  
<223> 寡肽

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Lys  
1 5

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

<220>  
<223> 寡肽

<400> 5

Ala Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Arg  
1 5

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

<220>  
<223> 寡肽

<400> 6

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Arg  
1 5

## 【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種用以檢測甲醛的寡肽，其包含如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列。

【請求項 2】 一種用以檢測甲醛的套組，係包含：

如請求項 1 所述之用以檢測甲醛的寡肽，用以與一待測樣品中的甲醛進行一衍生反應以形成一甲醛衍生物；及

碳酸氫銨，用以提供進行該衍生反應的一鹼性環境。

【請求項 3】 一種用以檢測甲醛的方法，係包含：

一樣品提供步驟，提供含有甲醛的一待測樣品；

一衍生步驟，係混合該待測樣品、碳酸氫銨及如請求項 1 所述之寡肽，於碳酸氫銨提供的一鹼性環境中，使該寡肽與該待測樣品所含有的甲醛進行一衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液含有一甲醛衍生物；及

一偵測步驟，係偵測該衍生溶液中的甲醛衍生物，以獲得一訊號波。

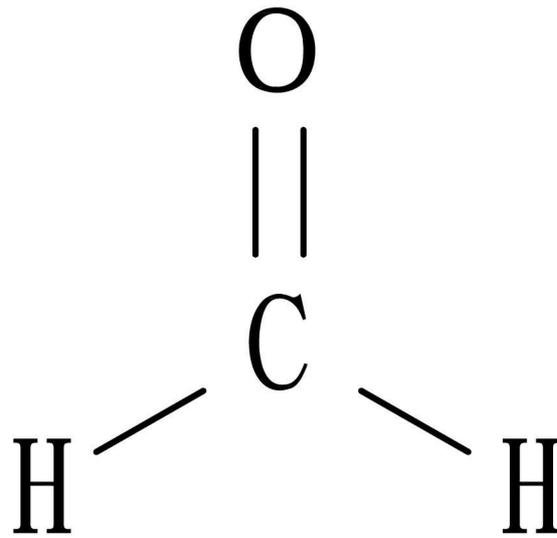
【請求項 4】 如請求項 3 所述之用以檢測甲醛的方法，其中，該偵測步驟中，係以液相層析法串聯質譜分析法偵測該衍生溶液，以獲得該訊號波。

【請求項 5】 如請求項 3 所述之用以檢測甲醛的方法，其中，該偵測步驟中，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甲醛衍生物，使該甲醛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，以獲得該訊號波。

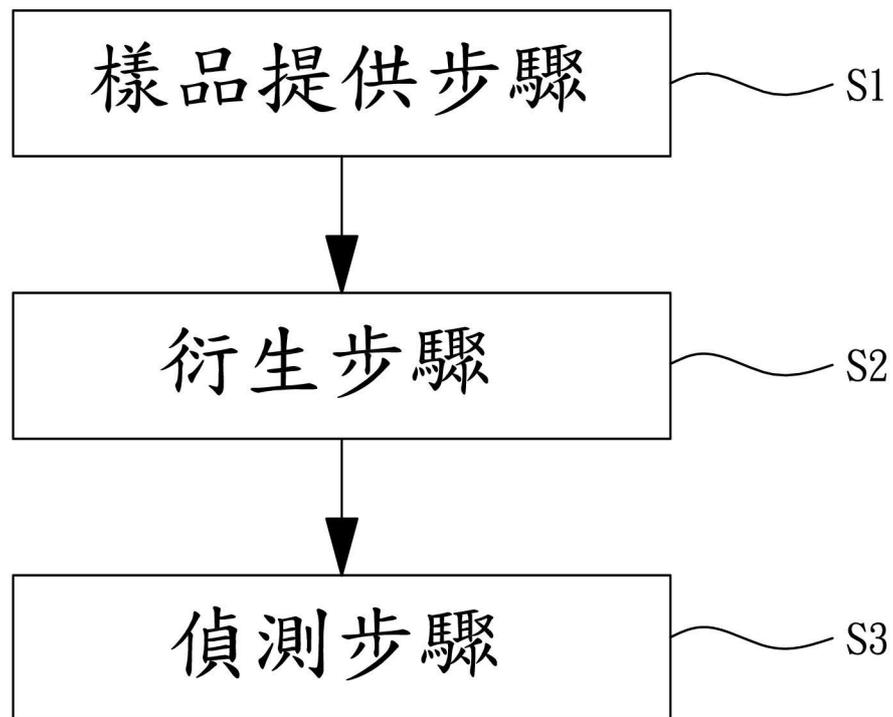
【請求項 6】 如請求項 5 所述之用以檢測甲醛的方法，其中，該偵測步驟中，該基質為  $\alpha$ -氰基-4-羥基桂皮酸。

【請求項 7】 如請求項 3 所述之用以檢測甲醛的方法，其中，該衍生步驟中，係以 600~800 W 的功率微波 3~5 分鐘，使該衍生反應得以進行。

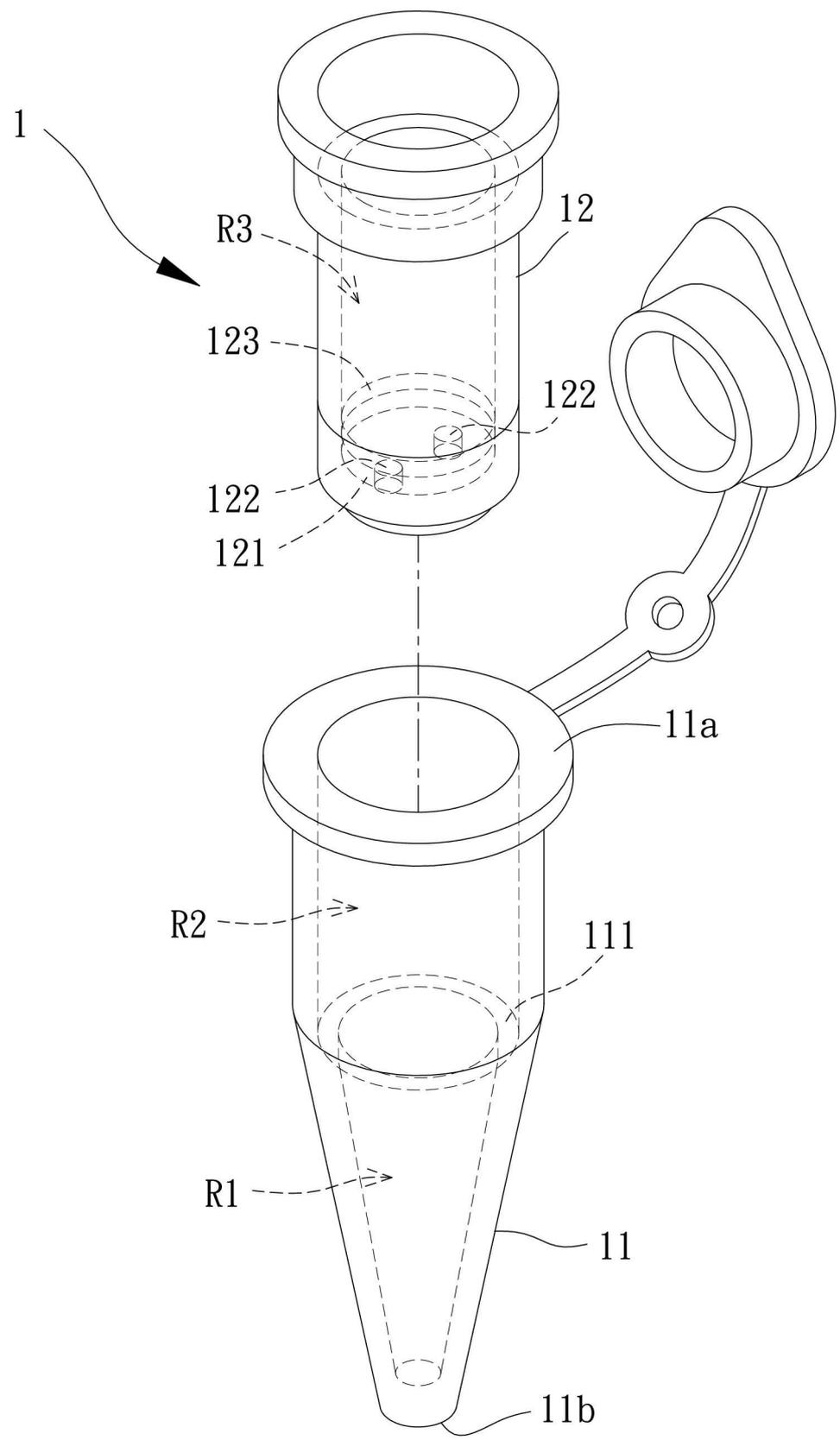
【發明圖式】



【第 1 圖】

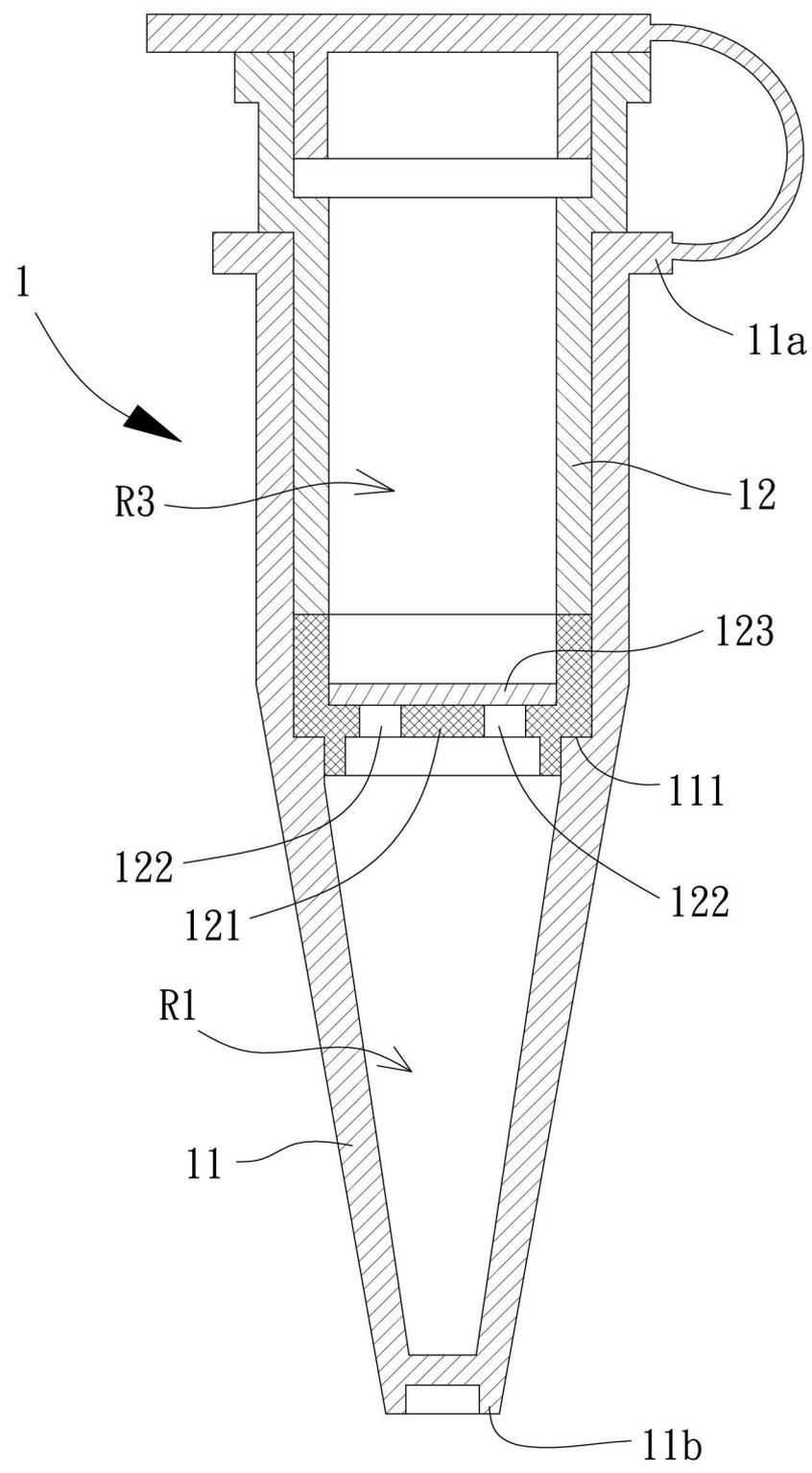


【第 2 圖】



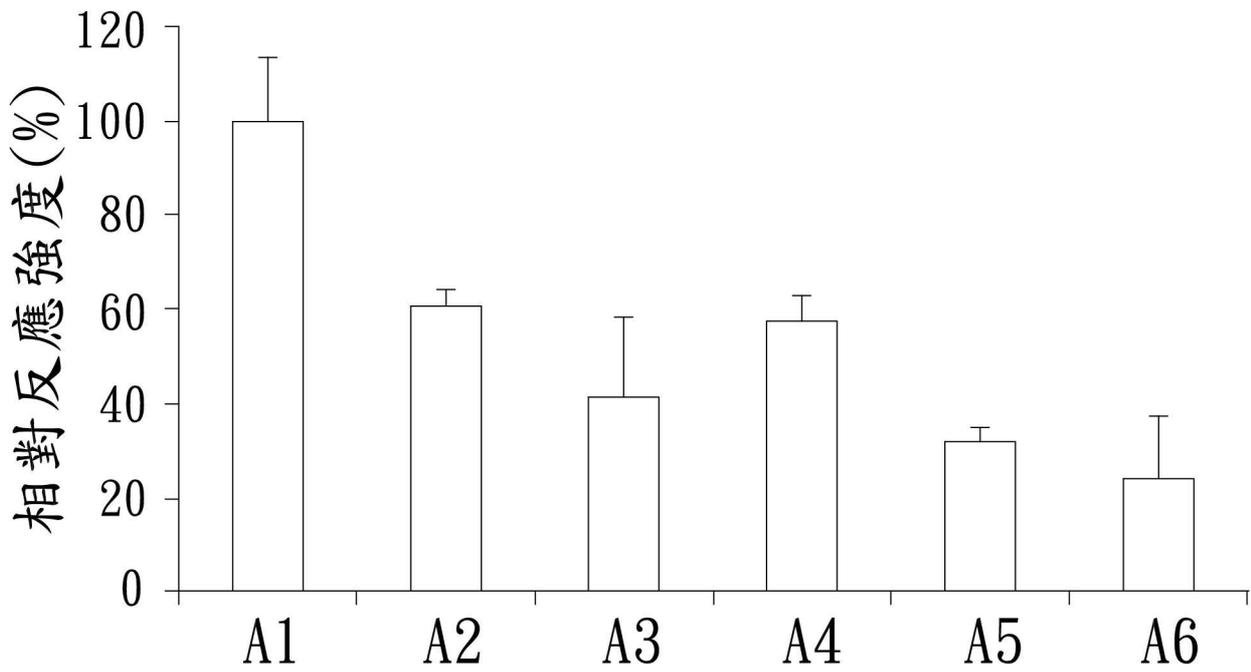
【第 3 圖】

INNOVUE  
新穎數位

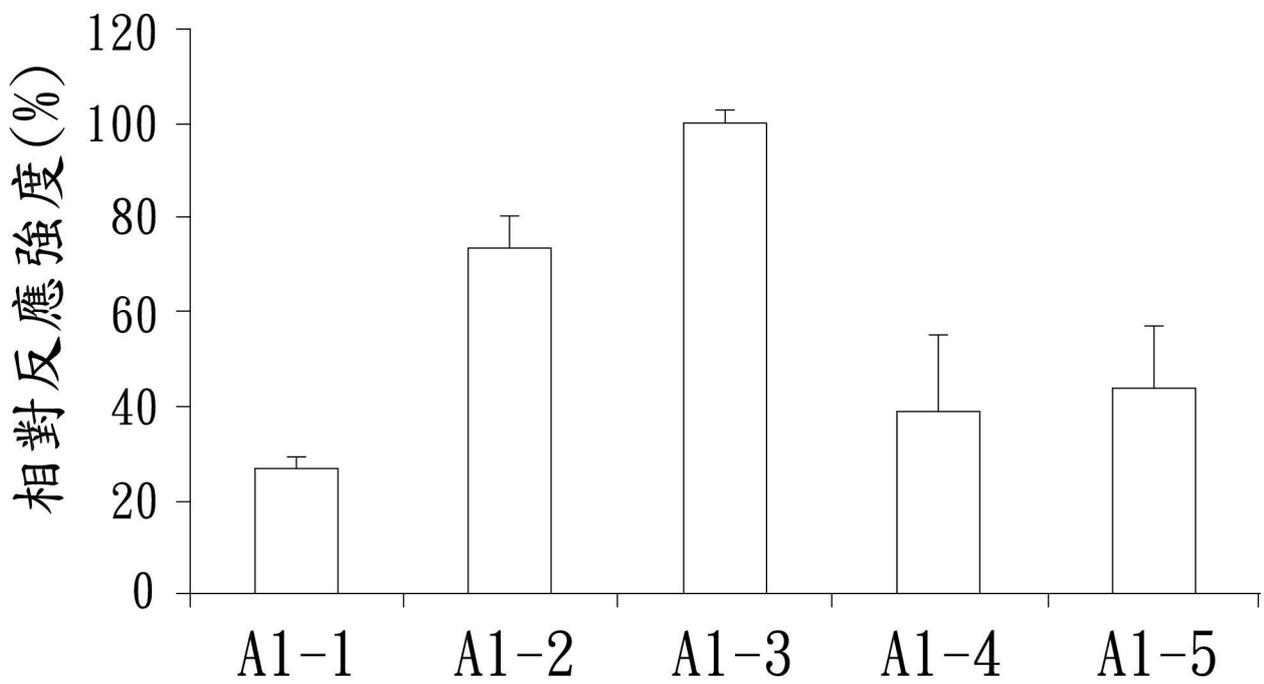


【第 4 圖】

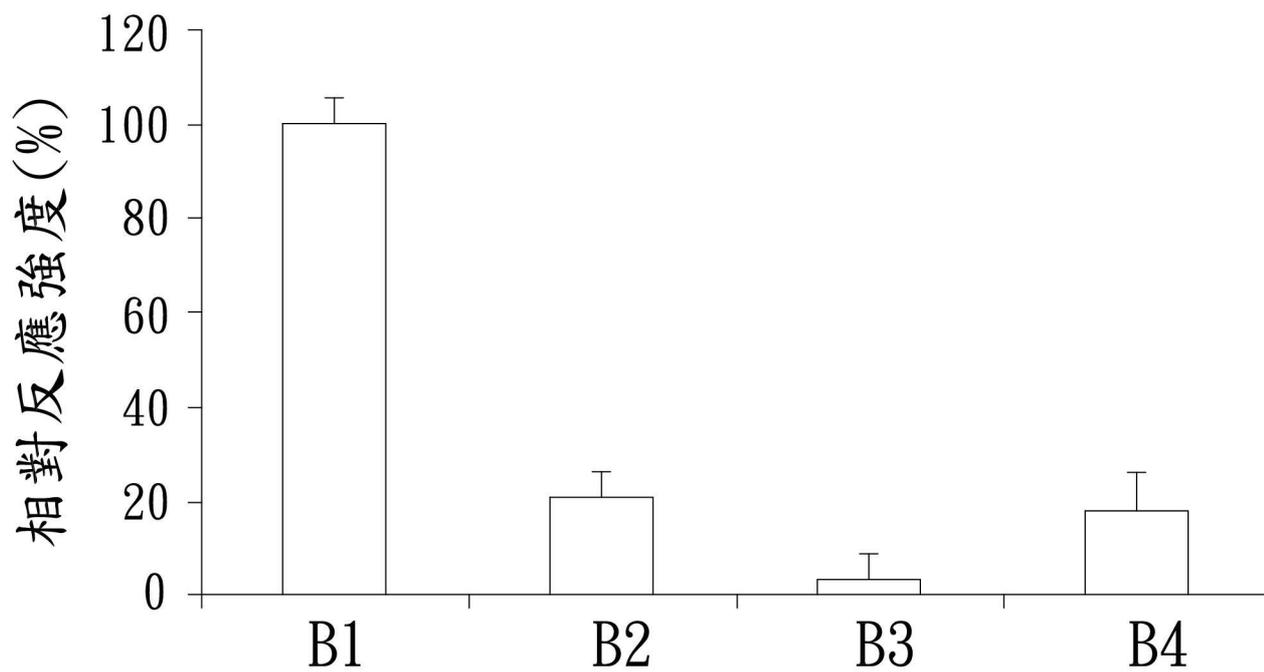
INNOVUE  
新穎數位



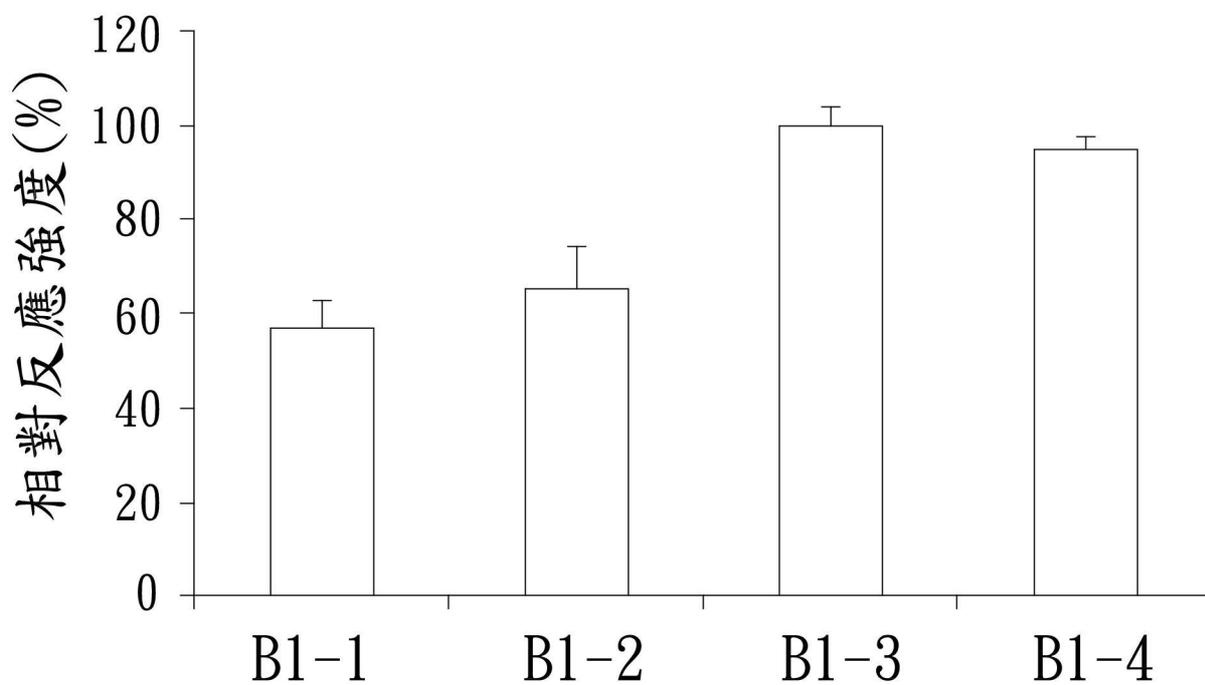
【第 5a 圖】



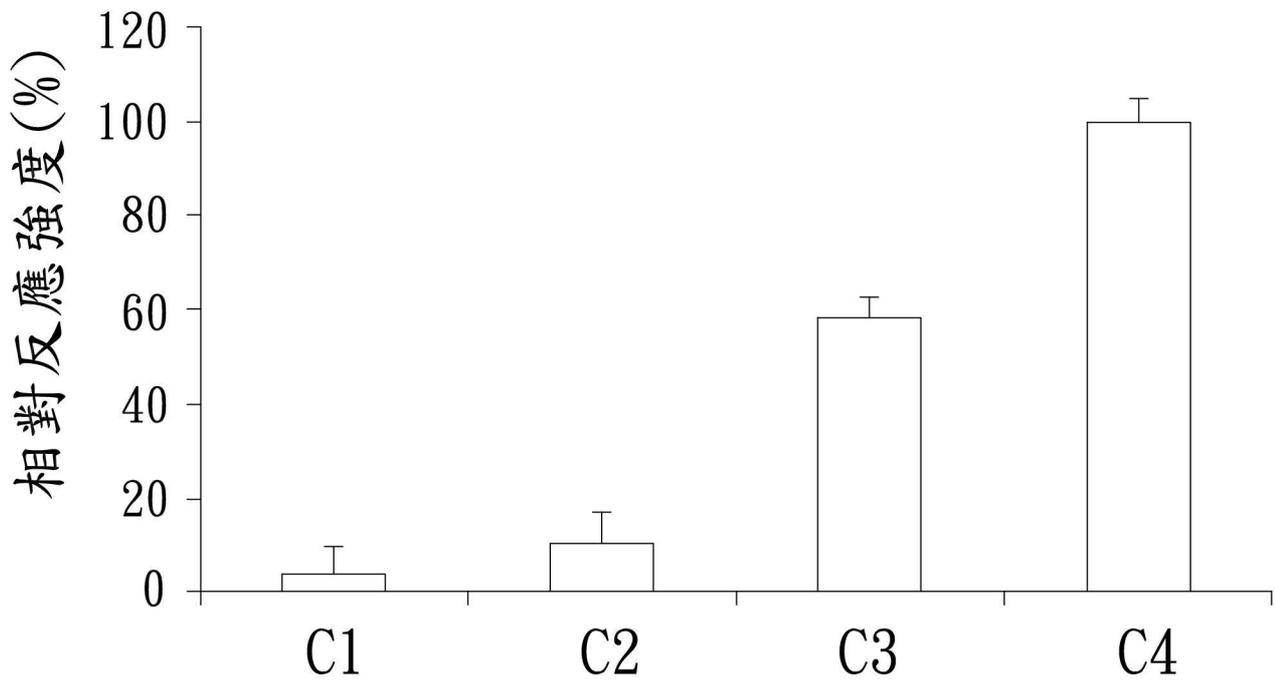
【第 5b 圖】



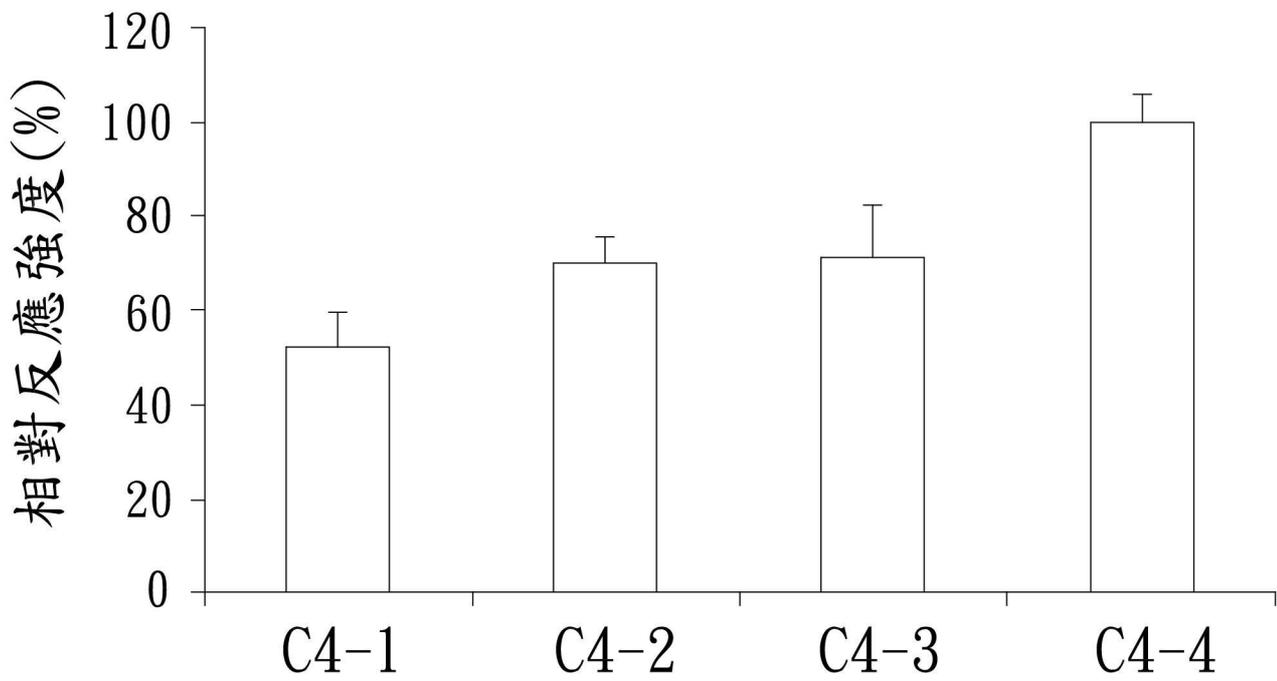
【第 6a 圖】



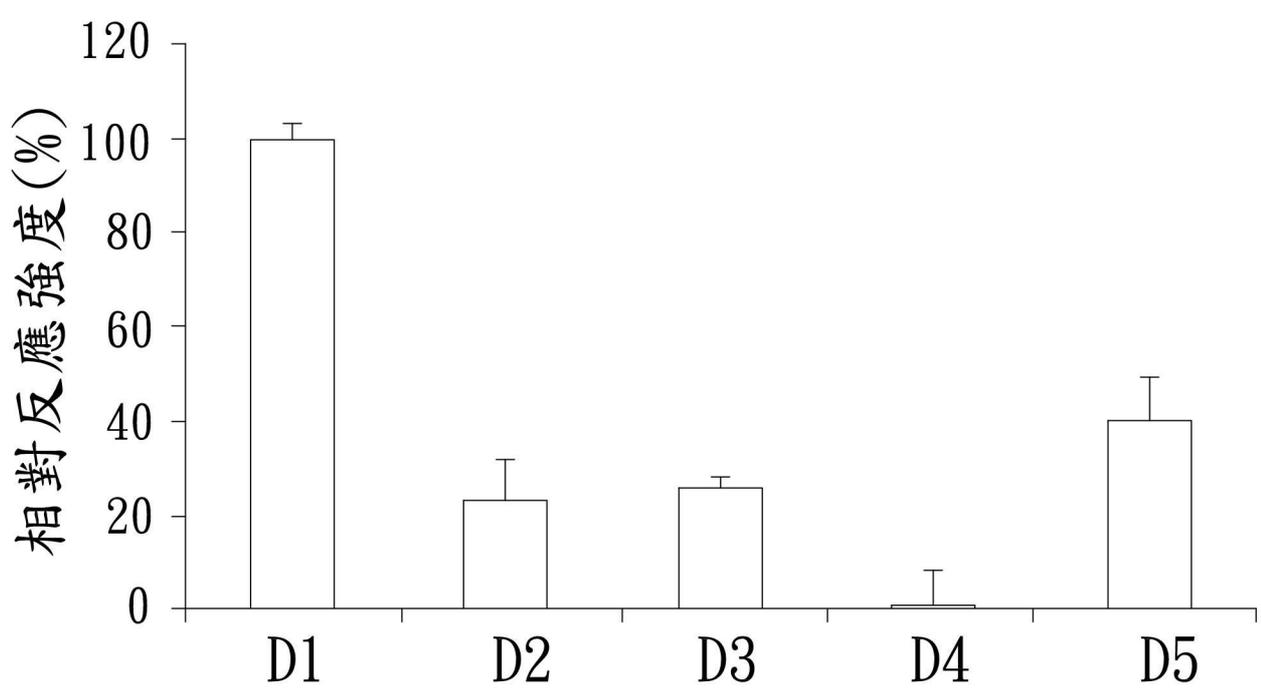
【第 6b 圖】



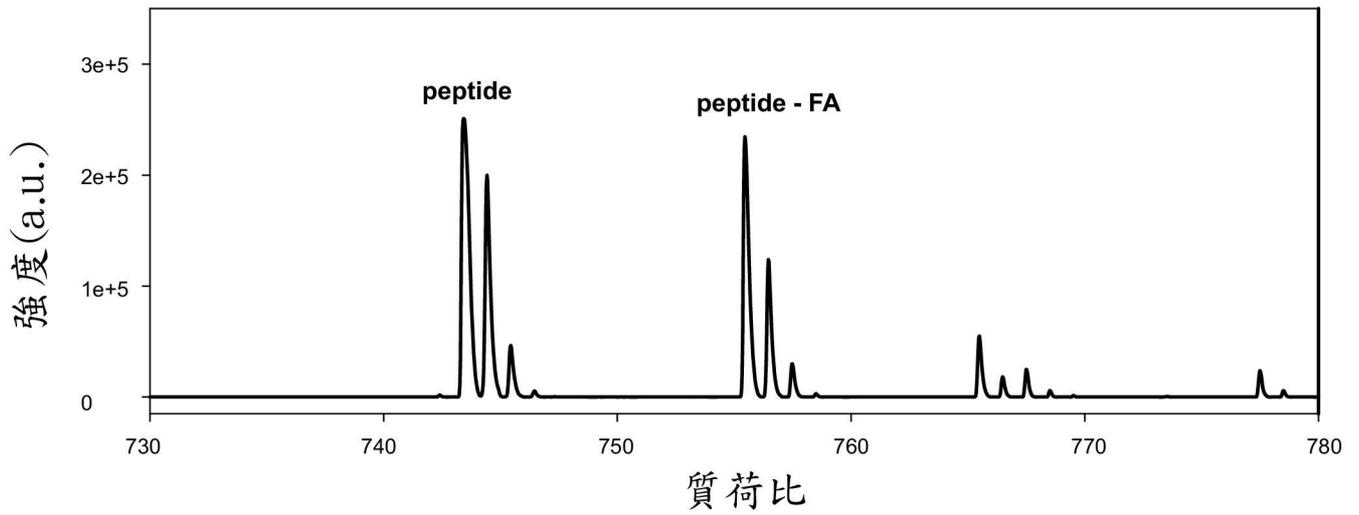
【第 7a 圖】



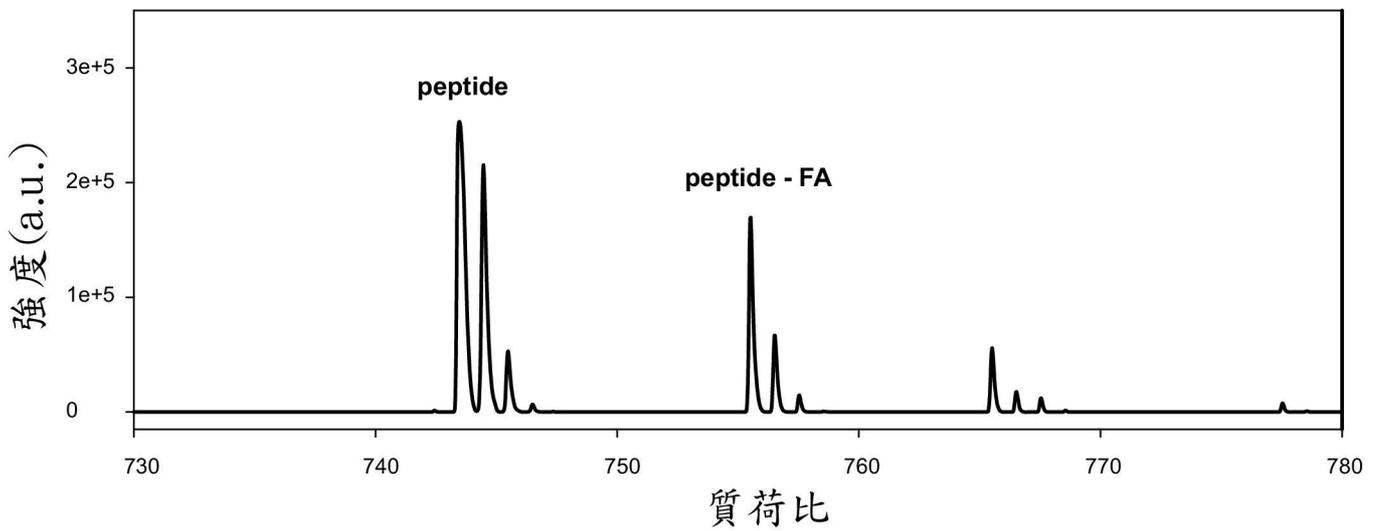
【第 7b 圖】



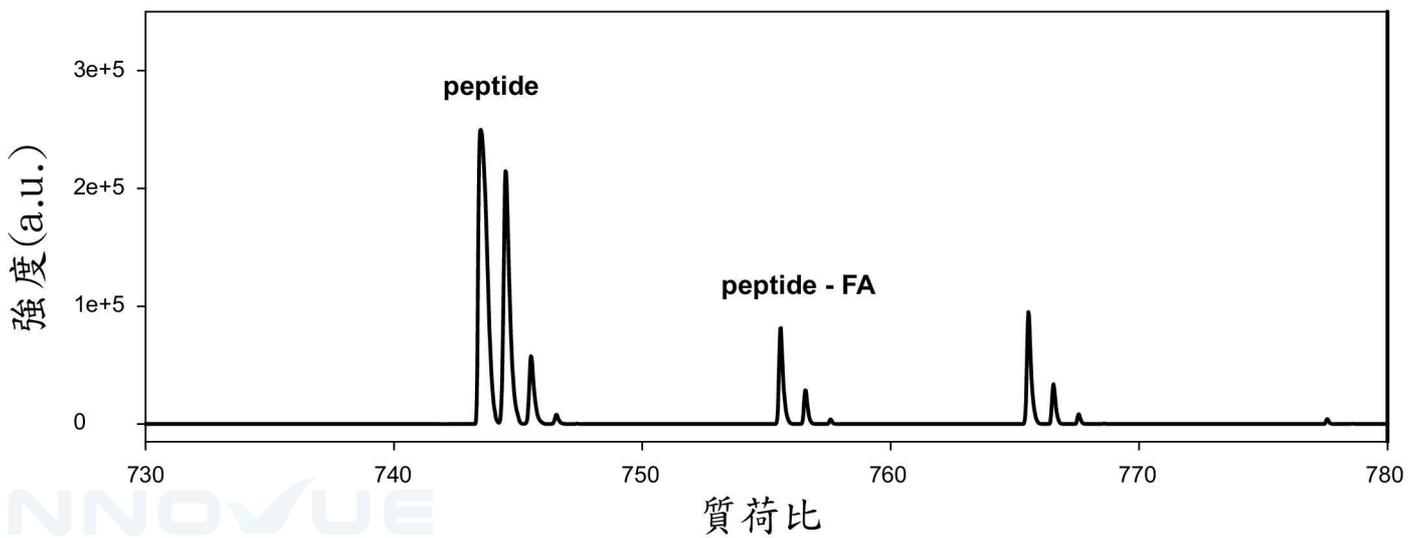
【第 8 圖】



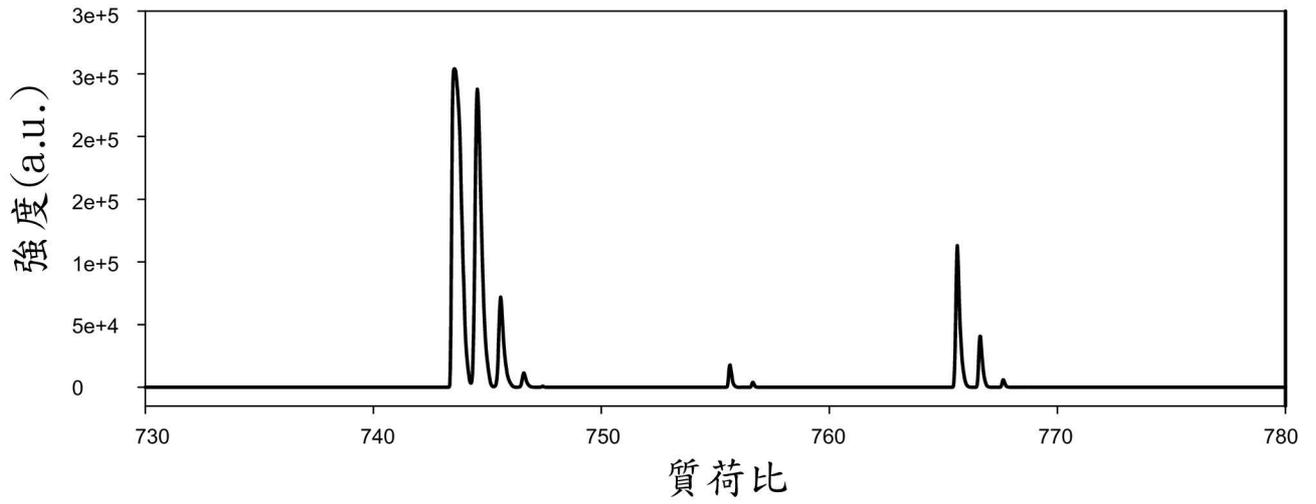
【第 9a 圖】



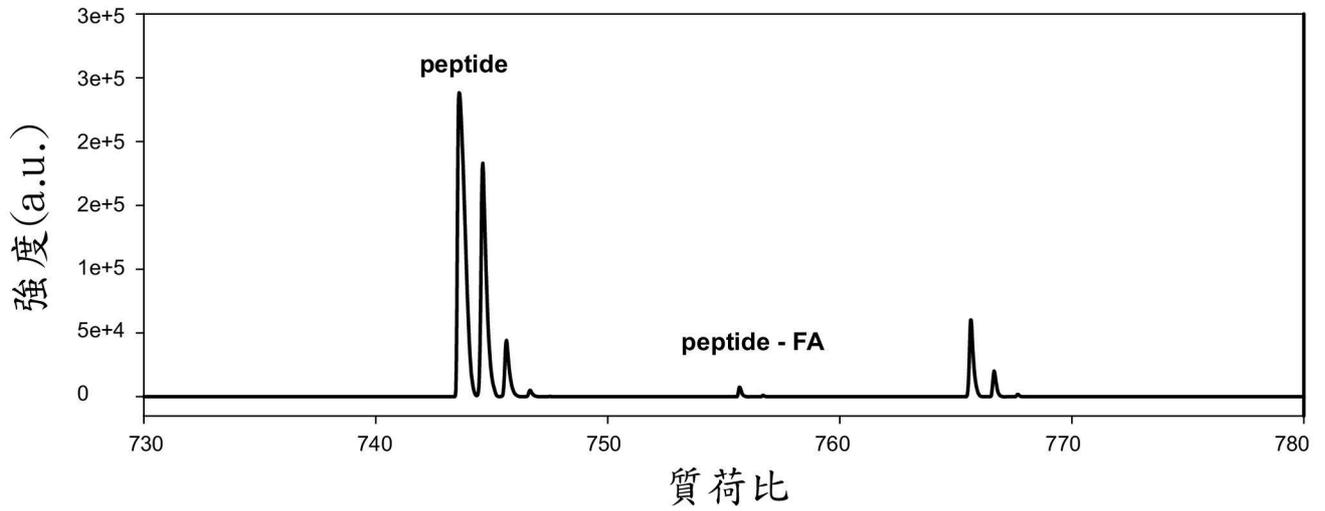
【第 9b 圖】



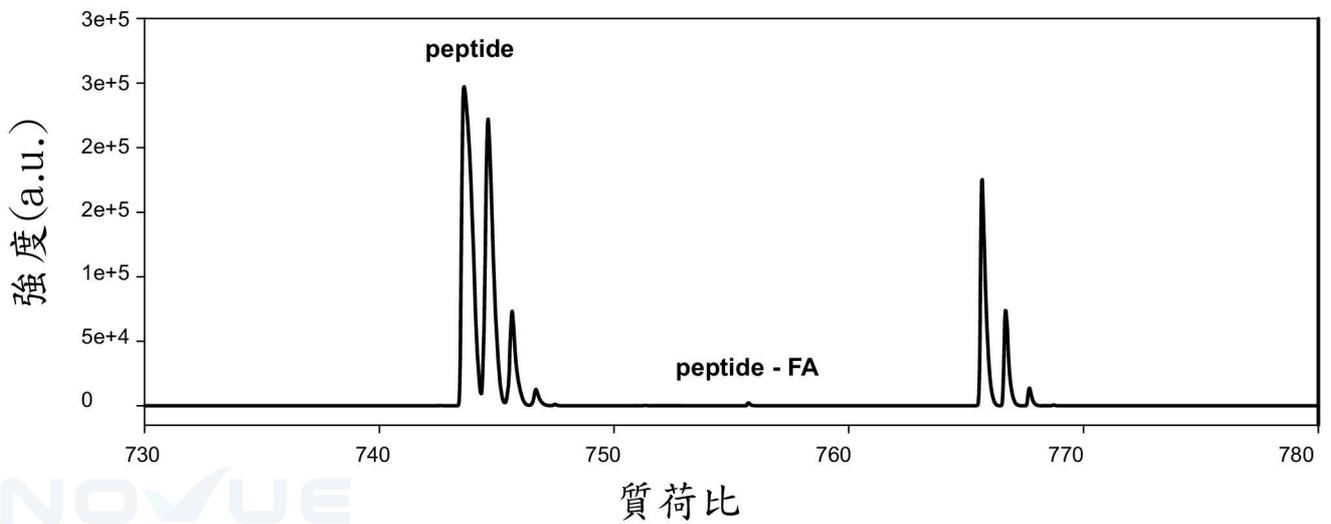
【第 9c 圖】



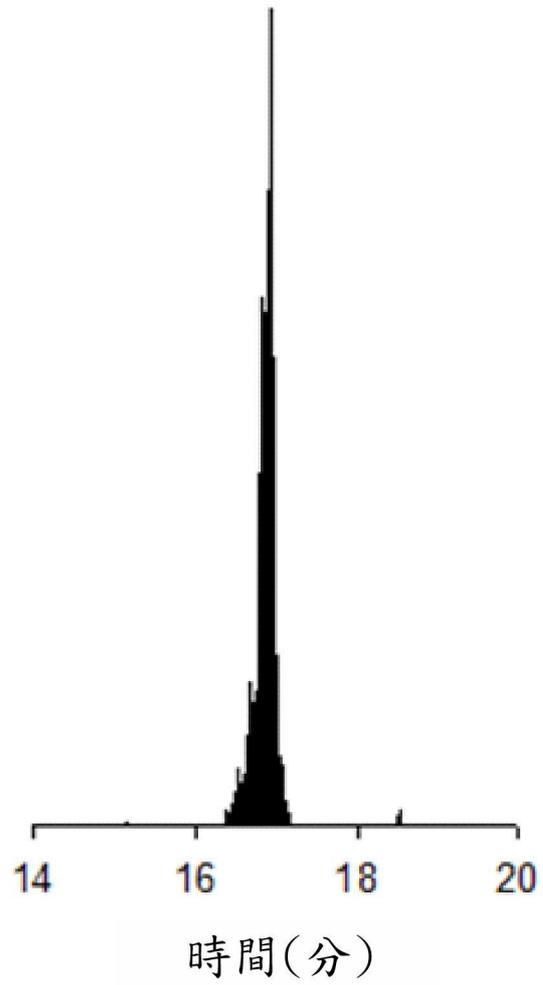
【第 9d 圖】



【第 9e 圖】



【第 9f 圖】



【第 10 圖】