

文章编号: 1008-9357(2026)04-0339-12

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20260407001

氢键对丙烯酰胺类共聚物溶液流变行为与 DNA 分离性能的影响

鲁 斌¹, 陈学峰², 张吉保², 徐秋虎¹, 范倩云¹, 苗贵兰¹, 龚昀晗¹, 王延梅¹

(1. 中国科学技术大学化学与材料科学学院, 合肥 230026; 2. 南京溯远基因科技有限公司, 南京 211899)

摘 要: 通过溶液聚合法制备了一系列不同结构单元比例的 *N,N*-二甲基丙烯酰胺(DMA)与羟乙基丙烯酰胺(HEA)的共聚物(P(DMA-*co*-HEA), 简称PDH), 并系统研究了聚合物溶液的氢键相互作用、质量浓度、温度及剪切速率对聚合物溶液流变学性能的影响, 同时将其应用于毛细管电泳以评估 HEA 含量对脱氧核糖核酸(DNA)片段分离性能的影响。流变学研究结果表明, 在不同质量浓度和温度下, 当 $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ 为 30 时, P(DMA-*co*-HEA) 的增黏性能达到最优, 说明适量的 HEA 结构单元能够通过氢键相互作用提高聚合物溶液的抗剪切稳定性和高温流变稳定性。黏弹行为结果表明, 当 $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ 为 20~40 时, 体系能够形成稳定的弱氢键物理网络。DNA 片段分析结果进一步表明, 适当引入 HEA 有助于提高对 DNA 片段的分离能力, 其中当 $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ 为 30 时, PDH 表现出最优的分离性能、较小的峰衰程度以及良好的分析重现性。

关键词: *N,N*-二甲基丙烯酰胺; 羟乙基丙烯酰胺; 流变学; 氢键; DNA 片段分离

中图分类号: O63

文献标志码: A

Influence of Hydrogen Bonding on Rheological Behavior and DNA Separation Performance of Acrylamide-Based Copolymer Solutions

LU Bin¹, CHEN Xuefeng², ZHANG Jibao², XU Qiuhu¹, FAN Qianyun¹, MIAO Guilan¹, GONG Yunhan¹, WANG Yanmei¹

(1. School of Chemistry and Materials Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

2. Nanjing Suyuan Gene Technology Co., Ltd., Nanjing 211899, China)

Abstract: Using *N,N*-dimethylacrylamide (DMA) and hydroxyethyl acrylamide (HEA) as comonomers, a series of P(DMA-*co*-HEA) copolymers with varying structural unit ratios were synthesized via solution polymerization. The hydrogen-bonding interactions in the polymer solutions and the effects of mass concentration, temperature, and shear rate on the rheological properties of the polymer solutions were systematically investigated. Concurrently, the copolymers were employed as sieving matrices in capillary electrophoresis applications to assess the impact of HEA content on the separation performance of deoxyribonucleic acid (DNA) fragments. Rheological results revealed that, across different mass concentrations and temperatures, the thickening ability of P(DMA-*co*-HEA) reached its maximum at a structural unit molar ratio

收稿日期: 2026-04-07

作者简介: 鲁 斌(2001—), 男, 安徽六安人, 硕士, 主要研究方向为聚合物溶液的流变学研究及 DNA 片段分析。E-mail: binlu@mail.ustc.edu.cn

通信联系人: 王延梅, E-mail: wangyanm@ustc.edu.cn

引用格式: 鲁 斌, 陈学峰, 张吉保, 徐秋虎, 范倩云, 苗贵兰, 龚昀晗, 王延梅. 氢键对丙烯酰胺类共聚物溶液流变行为与 DNA 分离性能的影响 [J]. 功能高分子学报, 2026, 39(4): 339-350.

Citation: LU Bin, CHEN Xuefeng, ZHANG Jibao, XU Qiuhu, FAN Qianyun, MIAO Guilan, GONG Yunhan, WANG Yanmei. Influence of Hydrogen Bonding on Rheological Behavior and DNA Separation Performance of Acrylamide-Based Copolymer Solutions [J]. Journal of Functional Polymers, 2026, 39(4): 339-350.

($n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$) of 30, indicating that appropriate HEA structural units can improve the shear stability and high-temperature rheological stability of polymer solutions via hydrogen-bonding interactions. Furthermore, the evaluation of viscoelastic behavior demonstrated that a stable, weak hydrogen-bonded physical network is formed within the system when $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ ranges from 20 to 40. DNA fragment analysis further confirmed that the proper incorporation of HEA facilitates the enhancement of DNA separation capability. Notably, when $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ was 30, the sieving matrix exhibited optimal separation performance, minimized peak attenuation, and excellent analytical reproducibility.

Key words: *N,N*-dimethylacrylamide; hydroxyethyl acrylamide; rheology; hydrogen bond; DNA fragment separation

丙烯酰胺类聚合物具备良好的化学稳定性、热稳定性、亲水性与优异的流变性能,被广泛应用于水处理、涂层、石油开采、毛细管电泳等领域^[1-4]。在生物分子(如肽、蛋白质、脱氧核糖核酸(DNA)等)的分离技术中,毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)凭借其样品耗量少、自动化水平高、分离效率高以及分析速率快等优势成为当前生物分子领域的主要分析技术^[5-7]。聚*N,N*-二甲基丙烯酰胺(PDMA)因其侧基带有2个甲基,对常用的熔融石英毛细管内壁有着优异的自涂覆能力,当其作为DNA筛分介质时,能够有效抑制电渗流,并且能够减少DNA与管壁间的相互作用,从而获得较窄的峰宽和较低背景信号,对DNA片段有着良好的分离性能^[8,9]。然而,PDMA在高离子强度缓冲液、高温等条件下的稳定性较差,导致分离性能及重复性降低。

作为DNA筛分介质的聚合物溶液通常具有较高的黏度,在CE分析过程中需施加足够大的压力来完成聚合物溶液的注入与洗出,在此过程中会产生高剪切力,破坏聚合物溶液网络结构的稳定性^[10]。Ghoniem等^[11,12]研究表明,聚合物的机械降解主要发生在毛细管入口区域,该位置大分子受拉伸作用最为显著,聚合物分子链在此完成由无规线团向直链的构象转变,进而引发分子链断裂并产生机械降解,体系黏度降幅最高可达50%~70%。PDMA筛分介质在高剪切条件下难以维持稳定的网络结构,容易因链构象变化和分子链断裂而导致分离性能下降;同时,PDMA与毛细管内壁之间的疏水相互作用较强,导致其在使用后难以被完全洗脱,从而产生一定的大分子吸附行为^[13]。相比之下,聚羟乙基丙烯酰胺(PHEA)具有羟乙基侧基,可以通过氢键为聚合物体系提供可调控的动态物理交联点,有助于调节筛分网络的稳定性^[14-16]。此外,PHEA对熔融石英毛细管内壁也具有自涂覆功能,在DNA分离过程中,可维持较低的电渗流,具备良好的长期稳定性^[17]。因此,通过在PDMA中引入共聚单体HEA可以提升筛分介质在不同测试需求下的稳定性与耐久性^[18,19]。

本文采用水溶液聚合法合成*N,N*-二甲基丙烯酰胺(DMA)与HEA的共聚物(P(DMA-co-HEA),简称PDH),系统考察单体配比及外界环境对共聚物溶液流变行为的调控规律,并进一步探究该共聚物用于毛细管电泳分离DNA片段的应用潜力。

1 实验部分

1.1 原料和试剂

HEA($w \geq 98.0\%$)、DMA($w > 99.0\%$)、过硫酸铵(APS, $w = 99.99\%$)、尿素(Urea, $w \geq 99.5\%$):阿拉丁化学试剂(上海)有限公司,HEA采用碱性氧化铝(粒径50~74 μm)填充柱进行纯化以除去阻聚剂,DMA经减压蒸馏精制后备用;异丙醇(IPA):分析纯,国药集团化学试剂有限公司,使用 CaH_2 除去水分后常压蒸馏纯化;四甲基乙二胺(TEMED, $w > 99.0\%$)、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris, $w \geq 99.7\%$)、*N*-三(羟甲基)甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS, $w \geq 99.5\%$)、乙二胺四乙酸(EDTA, $w \geq 99.4\%$)、氘代二甲基亚砷($\text{DMSO-}d_6$, 氘的丰度为99.9%,含0.03%(体积分数)的四甲基硅烷(TMS)):Sigma-Aldrich化学制品有限公司;重水(D_2O , 氘的丰度为99.9%):安耐吉(安徽泽升科技有限公司);DNA标准样品:沿溯Y41SE荧光检测试剂盒,江苏苏博生物医学科技有限公司;超纯水(18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$):由上海和泰实验室水净化装置制备。

1.2 测试与表征

傅里叶变换红外光谱(FT-IR):采用美国Thermo Scientific公司Nicolet 6700型红外光谱仪测试,扫描波长范围为4000~400 cm^{-1} ,分辨率为4 cm^{-1} ,扫描次数为32次。

核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$):采用瑞士BRUKER公司AVANCE III HD400型波谱仪(400 MHz)测试样品在

室温下的核磁共振氢谱,取干态样品溶于 0.55 mL 重水中,配制质量浓度(ρ)为 0.018~0.020 g/mL 的聚合物溶液,扫描次数为 128 次;采用日本 JEOL 公司 JNM-ECZ600R/S1 型波谱仪(600 MHz)测试样品在 60 °C 下的核磁共振氢谱,取干态样品溶于 0.6 mL DMSO- d_6 中,配制 0.04 g/mL 的聚合物溶液,扫描次数为 128 次。

热重分析(TGA):采用日本 Shimadzu 公司 DTG-60 H 型热重分析仪测定热分解温度(T_d),测试前将样品进行干燥处理,随后在流速为 30 mL/min 的氮气氛围下,以 20 °C/min 的升温速率将样品从 30 °C 加热至 700 °C。

差示扫描量热(DSC):采用日本 Shimadzu 公司 Q2000 型差示扫描量热仪测定聚合物玻璃化转变温度(T_g),测试前对样品进行升温-降温处理以消除热历史效应,再将样品从室温加热至 200 °C,升温速率为 10 °C/min,氮气氛围,流速为 30 mL/min。

凝胶渗透色谱(GPC):采用美国 Waters 公司凝胶渗透色谱仪测定聚合物的数均分子量($M_{n, GPC}$)与多分散性指数(PDI),仪器配备 Waters 1515 型等度输液泵与 Waters 2414 型示差折光检测器,色谱柱模块由三根串联的 Waters Styragel 线性色谱柱组成,数均分子量筛分区间为 $2 \times 10^3 \sim 800 \times 10^3$ 。柱温箱设定温度 50 °C,流动相为含 10 mmol/L LiBr 的 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液,流速 1.0 mL/min,采用单分散聚乙二醇标准品完成分子量校准。

特性黏数($[\eta]$):采用稀溶液黏度法,在 25 °C 恒温条件下测量聚合物在超纯水中的特性黏数。首先配制 1 mg/mL 的聚合物水溶液,在乌氏黏度计中测定其流经时间;随后将溶液逐步稀释,测量不同质量浓度的聚合物溶液和超纯水的流经时间,基于流经时间计算出增比黏度(η_{sp})和相对黏度(η_r),通过 $(\ln \eta_r)/\rho$ 、 η_{sp}/ρ 对 ρ 作图并进行线性拟合,外推至 $\rho=0$ 处得到特性黏数^[20]。

交叠浓度(c^*):25 °C 下,配制 0.01 g/mL 的聚合物水溶液,通过测定聚合物溶液在不同质量浓度下的 η_{sp} ,对 $\eta_{sp} \sim \rho$ 曲线拟合得到稀溶液区和半稀溶液区的增比黏度和质量浓度的函数关系,通过计算得到交叠浓度。

紫外-可见吸收光谱(UV-Vis):用日本 Shimadzu 公司 UV-3600i PLUS 型紫外-可见光谱仪测定聚合物溶液的最大吸收波长(λ_{max}),用容量瓶配制 ρ 分别为 2、25、50、100、150、200、300、400 mg/L 的聚合物溶液,溶剂为超纯水,扫描范围为 400~175 nm,取点间隔为 1 nm。

1.3 聚合物的合成

共聚物 P(DMA-co-HEA) 的合成路线如图 1 所示。首先,将单体 DMA 和 HEA(总物质的量为 0.009 08 mol)溶解在 100 mL 超纯水中,接着加入 2.5 mL 异丙醇,在 25 °C 水浴和磁力搅拌(400 r/min)下,向溶液中持续通入氮气以排除溶解氧,除氧 1 h 后用微量进样器加入引发剂 APS 与 TEMED,25 °C 下继续反应 4 h。将产物转移至截留分子量为 14×10^3 的透析袋中,于纯水中透析,冷冻干燥后得到共聚物 P(DMA-co-HEA)。当 $n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$ 分别为 50、40、30、20、10 时,得到的共聚物分别命名为 PDH1、PDH2、PDH3、PDH4、PDH5。

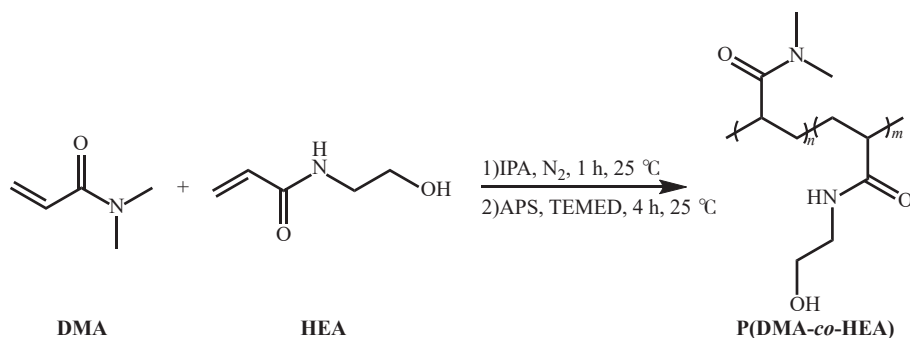


图 1 共聚物 P(DMA-co-HEA) 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of copolymer P(DMA-co-HEA)

将 DMA 或 HEA(物质的量为 0.009 08 mol)溶于 100 mL 超纯水中,再加入 2.5 mL 异丙醇,采用上述共聚物的制备方法制得均聚物 PDMA 或 PHEA。

1.4 流变性能测定

采用配备有 Peltier 温控系统的美国 TA 公司 Discovery HR-1 型流变仪对样品进行流变学测试。稳态剪切测试采用直径为 40 mm、锥角为 $1^\circ 0' 54''$ 的锥板,动态流变测试采用直径为 40 mm 的平板。2 种测试模式下的板间间隙均为 50.0 μm 。将聚合物溶解在超纯水中,分别配制成质量浓度为 0.02、0.04、0.08、0.16 g/mL 的聚合物溶液,样品在测试前于室温环境中静置 24 h。

表观黏度(η): 在 25 ℃ 下, 采用峰值保持模式(剪切速率($\dot{\gamma}$)为 1.32 s⁻¹)测量 PDH 溶液(0.04 g/mL)的表观黏度, 待数据稳定后线性取点。

稳态剪切测试: 使用稳态剪切速率($\dot{\gamma}=0.01\sim 2\,000\text{ s}^{-1}$)扫描, 对数等间距取点得到聚合物溶液(0.04 g/mL)分别在 25、40、60 ℃ 条件下的稳态流变曲线。25 ℃ 时, 使用稳态剪切速率($\dot{\gamma}=0.01\sim 2\,000\text{ s}^{-1}$)扫描, 对数等间距取点得到聚合物溶液质量浓度分别为 0.02、0.04、0.08、0.16 g/mL 时的稳态流变曲线。使用幂律方程(公式(1))对实验结果进行拟合^[21]。

$$\eta = \tau / \dot{\gamma} = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad (1)$$

其中: τ 为剪切应力, k 为稠度系数, n 为非牛顿指数。

动态流变测试: 在 0.1~100 rad/s 角频率范围内进行动态频率扫描, 测试聚合物溶液在 25、60 ℃ 条件下储能模量(G')和损耗模量(G'')的频率依赖性, 应变值在线性黏弹区内恒定在 0.2%。

1.5 DNA 片段分析

以 0.04 g/mL 的聚合物溶液为筛分介质, 该介质由聚合物溶解于 1×TTE+7 mol/L Urea 缓冲溶液(50 mmol/L Tris, 50 mmol/L TAPS, 2 mmol/L EDTA, 7 mol/L Urea, 溶剂为超纯水)中配制而成。使用南京溯远基因科技有限公司 Classic 116 型基因分析仪(配备激光诱导荧光检测器, 激发波长 505 nm)对标准 DNA 样品进行分析。采用 16 通道阵列毛细管(全长 47 cm, 有效长度 36 cm, 内外径分别为 50 μm 和 360 μm)。筛分介质注入和洗出的压强为 5.5 MPa, DNA 标准样品进样电压为 1.2 kV, 进样时间为 18 s, 电场强度为 15 kV, 电流为 1450 mA, 温度为 60 ℃, 阳极缓冲溶液为 1×TTE+7 mol/L Urea。

分离度(R_D)通过公式(2)进行计算^[18]:

$$R_D = 1.177(t_2 - t_1) / (W_2 + W_1) \quad (2)$$

其中: t_1 和 t_2 分别为相邻 DNA 片段的迁移时间(满足 $t_2 > t_1$), 相应的半峰宽由 W_1 和 W_2 表示。为消除碱基数目差(ΔB , 碱基对的碱基数目差值)对分离度的影响, 本文用 $R_D/\Delta B$ 表示碱基对的分离度^[22]。为了对比不同的筛分介质对 DNA 的分离作用, 本文通过对 5 对不同片段大小的碱基对((100/114)bp、(214/220)bp、(314/320)bp、(414/420)bp、(514/520)bp)进行分离度计算, 评估不同筛分介质的分离性能差异。

通过峰均衡度(ΔH)表征毛细管电泳分离 DNA 片段的峰衰程度, ΔH 可通过文献[10]中的方法进行计算, ΔH 越接近 1, 其峰衰程度越低。

2 结果与讨论

2.1 聚合物的表征

图 2(a) 为样品的红外光谱图, 在 3465 cm⁻¹ 处的宽峰为 O—H 伸缩振动峰, PDMA 中因残留水分在此处出现 O—H 宽吸收带, 而 PDH 与 PHEA 的 O—H 宽吸收带更为显著, 这归因于两者侧基中羟乙基上 O—H 的含量更高。在 2930 cm⁻¹ 处均为 C—H 的伸缩振动峰, 在 1150 cm⁻¹ 处均为 C—N 的伸缩振动峰, 在 1640 cm⁻¹ 和 1500 cm⁻¹ 处分别为酰胺基团的特征峰: C=O(酰胺 I) 的伸缩振动峰和 N—H(酰胺 II) 的弯曲振动峰, 表明羟基、酰胺等官能团的存在。共聚物 PDH 的官能团特征与 2 种均聚物相符, 这表明单体 DMA 与 HEA 已成功实现共聚。

样品的 ¹H-NMR 谱图如图 2(b) 所示, PDMA 的侧基甲基(—CH₃)、主链的亚甲基(—CH₂)和次亚甲基(—CH)的化学位移分别为 3.0(d 峰)、2.6(c 峰)和 1.6(a 峰)。PHEA 的侧基亚甲基(e、f 峰)位于化学位移 3.3~3.6, 其主链亚甲基(a)则与 PDMA 重合, 均在化学位移 1.6 附近。¹H-NMR 谱图表明 PDH 中存在 DMA 和 HEA 结构单元, 说明共聚物 PDH 成功制备, DMA 和 HEA 的结构单元比例可通过 f 峰和 c 峰的积分面积计算得到(表 1)。

对均聚物 and 不同结构单元比例的共聚物 PDH 进行了 TGA 测试, 结果如图 2(c) 所示。PDMA 在室温到 700 ℃, 仅存在 1 个失重区间, 主要为聚合物主链的断裂和侧链中酰胺基团的热降解和脱离, 失重率约为 96.2%; 而 PHEA 存在 2 个失重区间, 在 300~380 ℃ 主要为聚合物主链和酰胺基的初步断裂与降解, 以及羟

乙基侧基部分的热降解和脱离, 在 400~700 °C 主要为主链的进一步断裂以及羟乙基侧基和氨基-酰胺骨架的进一步降解。在此温度范围内, PHEA 的失重率较 PDMA 降低约 6.9%, 共聚物 PDH 仅存在 1 个失重区间, 且随着 HEA 结构单元含量的增加, 失重率降低, T_d 也随之降低(表 1)。对 PDH 进行 DSC 测试, T_g 如表 1 所示, 共聚物只存在 1 个 T_g , 验证了共聚物 PDH 的成功制备, 而不是 2 种均聚物的混合物。

通过 GPC(图 2(d))测定了聚合物的数均分子量和 PDI(表 1), 6 种聚合物的流出时间均在 11 min 左右, 且均为单峰。通过稀溶液黏度法对均聚物 PDMA 和共聚物 PDH 进行了特性黏数的测定(表 1), 异丙醇在聚

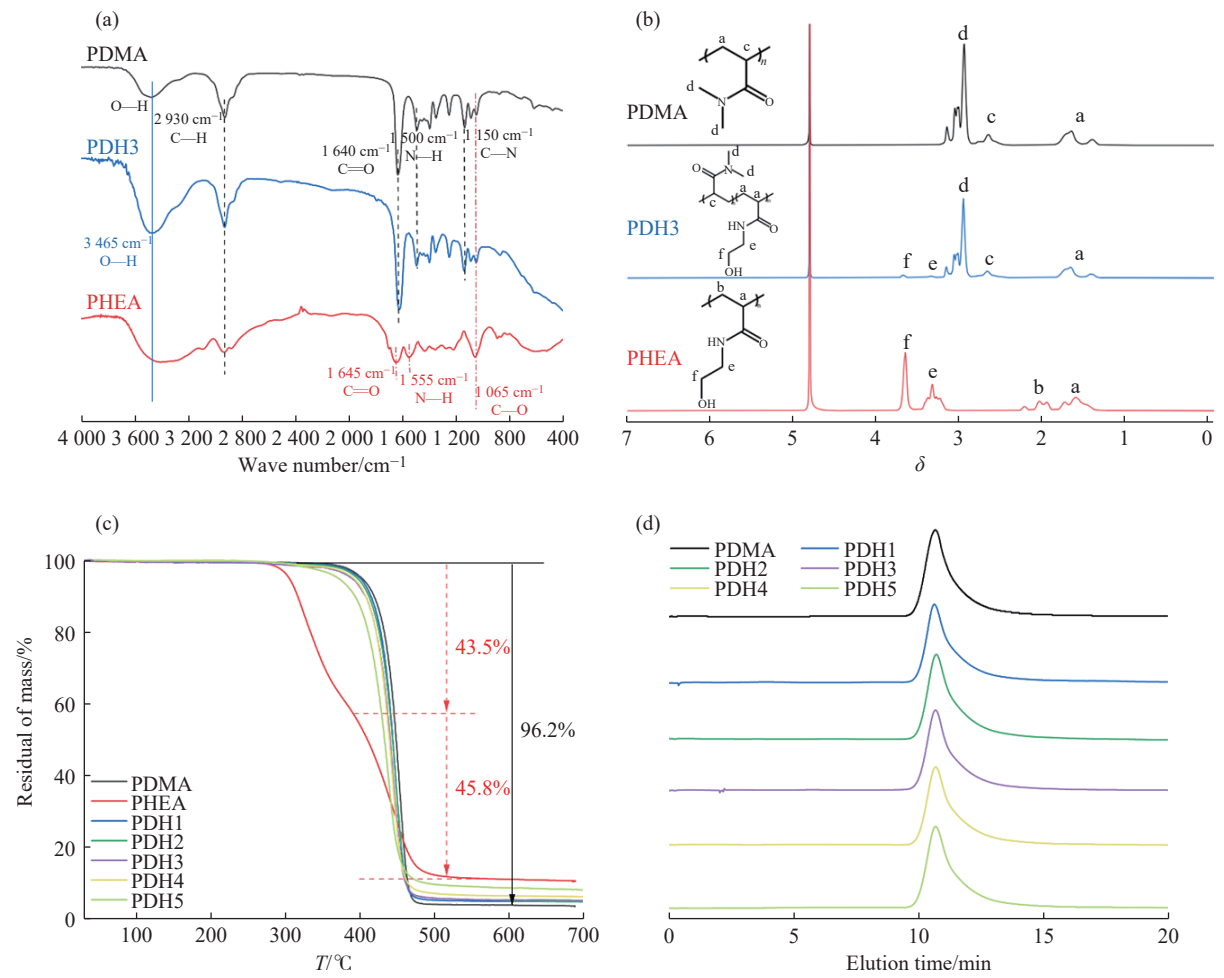


图 2 样品的(a)红外谱图、(b)核磁共振氢谱图、(c)TGA 曲线和(d)GPC 曲线
Fig. 2 (a) FT-IR spectra, (b) ^1H -NMR spectra, (c) TGA curves and (d) GPC curves of samples

表 1 样品的性能参数

Table 1 Performance parameters of samples		$n(\text{DMA})/n(\text{HEA})$	$[\eta]/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	$M_{n,\text{GPC}}$	PDI	$T_d/^\circ\text{C}$	$T_g/^\circ\text{C}$
Sample							
	Feed ratio	Calculated by ^1H -NMR					
PDMA	—	—	234.32	3.25×10^5	1.52	430	126.5
PDH1	50	40.12	218.79	3.12×10^5	1.59	423	132.8
PDH2	40	37.28	218.37	3.01×10^5	1.56	417	128.3
PDH3	30	29.92	234.58	3.28×10^5	1.52	407	129.8
PDH4	20	19.44	232.56	3.26×10^5	1.51	397	129.6
PDH5	10	11.32	232.20	3.24×10^5	1.52	377	133.2

合反应中作为链转移剂调节分子量,在相同实验配方下,聚合物的数均分子量在 $3.00 \times 10^5 \sim 3.28 \times 10^5$ 范围内,与 $[\eta]$ 呈正相关性,并且 PDI 在 1.51~1.59 范围内,表明该氧化还原引发体系的水溶液聚合反应具有一定的可控性和较好的稳定性。

聚合物溶液的交叠浓度是增比黏度随质量浓度变化的突变点,其结果如表 2 所示,共聚物 PDH 的交叠浓度均在 0.0019~0.0021 g/mL 范围内。

表 2 稀溶液和半稀溶液中共聚物的增比黏度和质量浓度之间的函数关系

Table 2 Functional relationship between the specific viscosity and mass concentration of PDH in dilute and semi-dilute solution regions

Sample	Functional relationship between η_{sp} and ρ		$c^*/(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
	Dilute solution	Semi-dilute solution	
PDH1	$\eta_{sp}=10^{0.19} \cdot \rho^{0.10}$	$\eta_{sp}=10^{0.70} \cdot \rho^{0.83}$	0.0020
PDH2	$\eta_{sp}=10^{0.16} \cdot \rho^{0.08}$	$\eta_{sp}=10^{0.71} \cdot \rho^{0.83}$	0.0019
PDH3	$\eta_{sp}=10^{0.19} \cdot \rho^{0.10}$	$\eta_{sp}=10^{0.74} \cdot \rho^{0.87}$	0.0019
PDH4	$\eta_{sp}=10^{0.18} \cdot \rho^{0.10}$	$\eta_{sp}=10^{0.71} \cdot \rho^{0.89}$	0.0021
PDH5	$\eta_{sp}=10^{0.18} \cdot \rho^{0.10}$	$\eta_{sp}=10^{0.71} \cdot \rho^{0.83}$	0.0019

2.2 聚合物溶液的氢键

当聚合物的质量浓度为 2~400 mg/L 时,随着质量浓度升高,各样品的紫外-可见吸收光谱均发生了不同程度的红移(图 3(a~g))。当质量浓度由 25 mg/L 增加至 400 mg/L 时,PDMA 的 $\lambda_{\max}$ 从 197 nm 移至 212 nm ($\Delta\lambda_{\max}=15$ nm),这可能是由于随着 PDMA 质量浓度增加,DMA 结构单元疏水侧基的缔合作用增强,致使跃迁能级减小,进而引发红移现象;PHEA 的 $\lambda_{\max}$ 从 192 nm 移至 203 nm ($\Delta\lambda_{\max}=11$ nm),这可能是其侧基中羟基与羰基氧形成分子内氢键,使 $n-\pi^*$ 跃迁能级减小,最大吸收波长向长波方向移动^[23]。随着质量浓度的增加,PDH 的 $\lambda_{\max}$ 也向长波方向移动, $\lambda_{\max}$ 为 199~209 nm,其最低质量浓度下的 $\lambda_{\max}$ 高于 PDMA 与 PHEA 最低质量浓度下的 $\lambda_{\max}$,而最高质量浓度下的 $\lambda_{\max}$ 则介于 PDMA 与 PHEA 最高质量浓度下的 $\lambda_{\max}$ 之间,同时其红移值在 PDMA 和 PHEA 之间,表明随着质量浓度的增加,PDH 的红移是氢键与 DMA 结构单元的疏水基团聚集共同作用的结果。

图 3(h, i)分别是 25、60 °C 下,0.04 g/mL 的 PDH、PHEA 和 PDMA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图(TMS 为内标)。无论是 25 °C 还是 60 °C,和 PDH 相比,PHEA 的羟基质子峰均向低场移动(化学位移升高),这是因为 PHEA 有高密度的羟基,形成大量氢键,从而导致其羟基质子表现出较大的化学位移。然而,PHEA 的酰胺质子峰的化学位移比共聚物的低,这是因为氮的电负性小于氧,—NH—给电子能力弱于羟基,羰基氧与羟基优先形成氢键($-\text{OH} \cdots \text{O}=\text{C}$),导致均聚物 PHEA 中—NH—可形成的氢键数量较少;而共聚物含有大量 DMA 结构单元,其—NH—可与过量羰基氧形成氢键($-\text{NH} \cdots \text{O}=\text{C}$),因此共聚物中—NH—的化学位移高于 PHEA。由此可见,随着 HEA 含量的增大,体系内氢键数目随之增多。对比 25 °C 与 60 °C 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图,升温使 PHEA 和 PDH 的羟基和酰胺质子峰向高场移动,相比而言,PHEA 的化学位移向高场移动更大,表明体系中存在的氢键在 60 °C 时部分被破坏,且随着氢键数目的增多,断裂的氢键会更多,这也从另一方面说明共聚物中的氢键相互作用会随着 HEA 含量的增大而增强。综上所述,0.04 g/mL 的共聚物溶液中存在氢键,且 HEA 含量的增大有利于促进更多氢键的形成,升高温度会使部分氢键被破坏。

2.3 质量浓度、温度对 PDH 流变性能的影响

对 0.02、0.04、0.08、0.16 g/mL 的 PDMA 和 PDH 样品(质量浓度高于交叠浓度 0.0021~0.0019 g/mL,处于半稀溶液区)在 25 °C 条件下进行了稳态剪切测试,黏度-剪切速率曲线在剪切速率处于 $0.01 \sim 100 \text{ s}^{-1}$ 范围内使用幂律方程(公式(1))进行拟合^[24],得到 PDMA 和 PDH 溶液的稠度系数与质量浓度的关系(图 4)。稠度系数可表征溶液中聚合物分子的增黏能力,由图 4 可知,随着质量浓度的增大, k 值逐渐增大,在高质量浓度时聚合物的增黏能力更为明显。PDMA 表现出较强的增黏能力,这是由于 PDMA 中没有氢键供体,溶液体系中主要存在羰基与水分子形成的氢键,无分子间氢键,高分子链在水中高度伸展,流体力学体积大,增黏效果好。在低 HEA 含量时,体系中以分子内氢键和疏水聚集为主,原本伸展的线团发生收缩,流体力学体积减小,

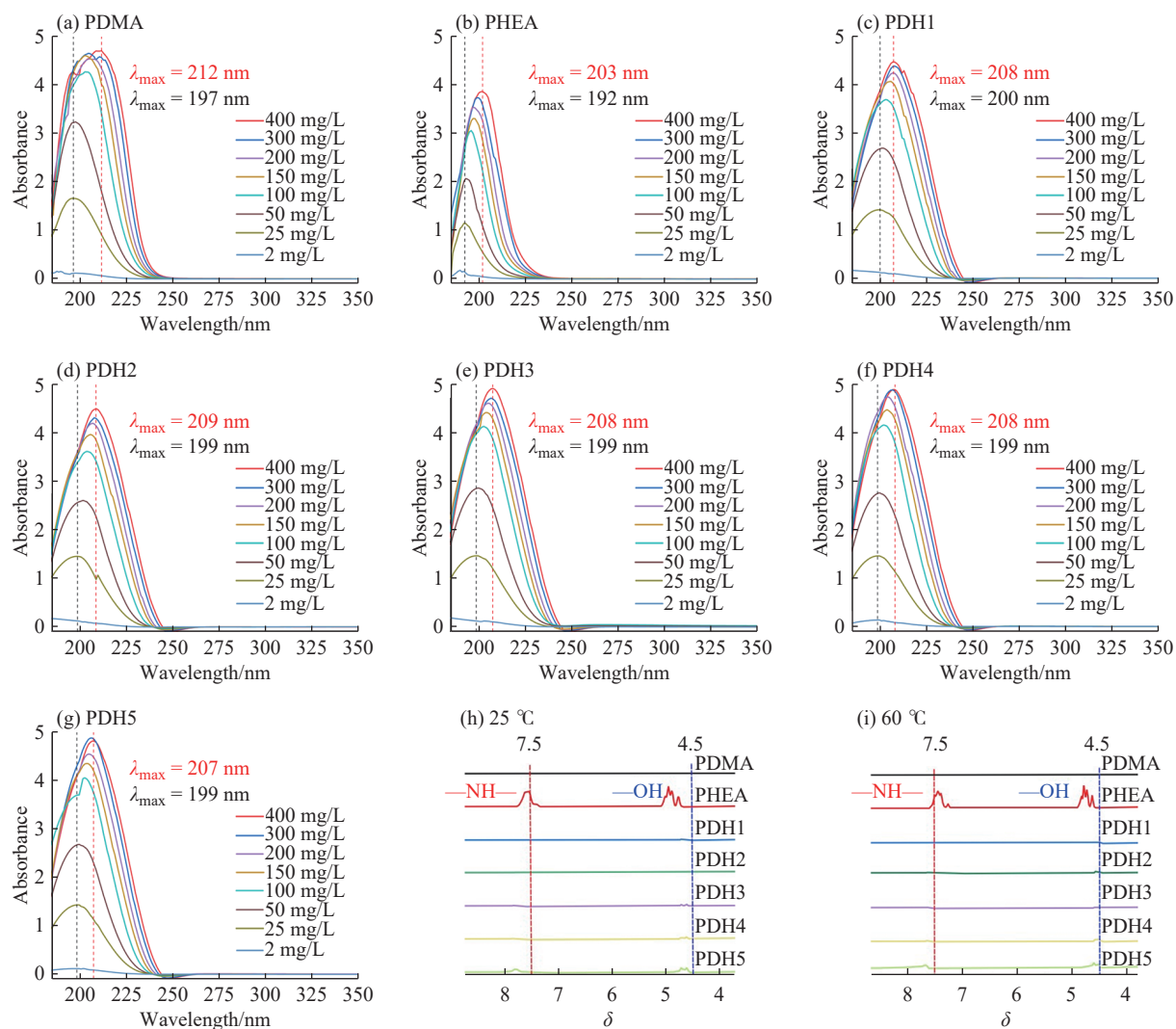


图3 (a~g)PDMA、PHEA 和 PDH 的 UV-Vis 光谱; (h, i)25、60 °C 下 PDMA、PHEA 和 PDH 的 $^1\text{H-NMR}$ 波谱 ($\rho=0.04 \text{ g/mL}$)
Fig. 3 (a~g) UV-Vis spectra of PDMA, PHEA, and PDH; (h, i) $^1\text{H-NMR}$ spectra of PDMA, PHEA and PDH at 25 °C and 60 °C ($\rho=0.04 \text{ g/mL}$)

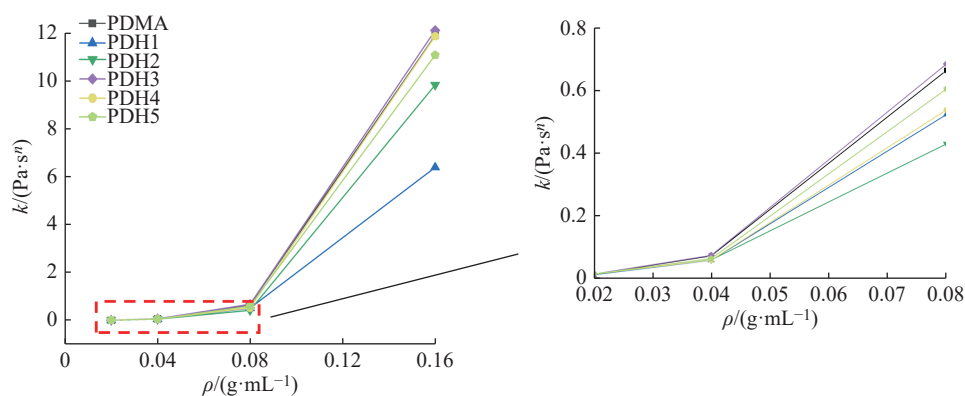


图4 25 °C 下, PDMA 和 PDH 溶液的稠度系数

Fig. 4 Consistency index of PDMA and PDH solutions at 25 °C

导致增黏能力比 PDMA 差。PDH3 的 k 值处于最大值, 此时体系中的分子间氢键密度增加, 促进了聚合物链间的缠结作用, 使其具有更好的增黏性能。然而, 当进一步增加 HEA 含量时, 更强的氢键作用使聚合物链间的相互作用远大于链与溶剂的相互作用, 进而导致体系网络收缩, 增黏能力下降。

本课题组^[10]在先前的工作中, 已系统地对 DNA 片段分离介质的质量浓度进行了研究, 以此为依据选取

0.04 g/mL 的聚合物溶液作为主要研究对象。图 5 为 PDMA 和 PDH 溶液在 25 °C 条件下的表观黏度, 随着 HEA 含量的增大, PDH 溶液的表观黏度先增大后减小, 其中 PDH3 的表观黏度最大, 这与上述结论一致。

PDH 和 PDMA 溶液在不同温度下的黏度与剪切速率曲线如图 6 所示。在不同温度下, 聚合物溶液均表现出剪切变稀行为, 随着温度升高, 溶液体系的黏度减小, 其中, PDH3 在不同温度条件下均表现出较大的黏度。通过幂律方程(公式(1))对图 6 曲线进行拟合, 得到的参数如表 3 所示, 由于温度升高会破坏氢键以及链段热运动增强, 聚合物溶液的 k 值均随温度的升高而降低, 增黏能力下降。PDMA 在不同温度下表现出较高的 k 值, 得益于高分子链与溶剂水分子间的氢键相互作用。PDH3 的 k 值在不同温度下整体保持较高的水平, 此时体系中分子间氢键较少, 受温度影响较小, 从而表现出较强的增黏能力。当 HEA 含量过低时, 温度升高会促进 DMA 结构单元的疏水相互作用[25]; 当 HEA 含量过高时, 氢键更多, 受温度影响较大。因此在不同温度下, 过高和过低 HEA 含量的共聚物的 k 值处于较低水平。

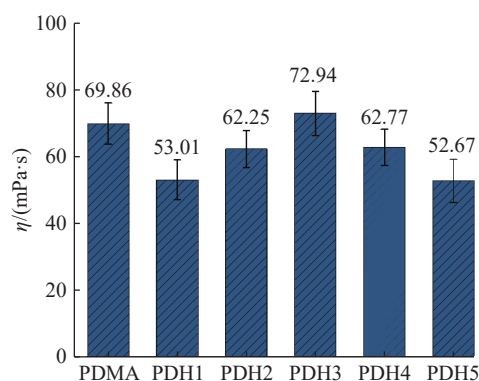


图 5 PDMA 和 PDH 溶液($\rho=0.04$ g/mL)在 25 °C 下的表观黏度
Fig. 5 Apparent viscosity of PDMA and PDH solutions ($\rho=0.04$ g/mL) at 25 °C

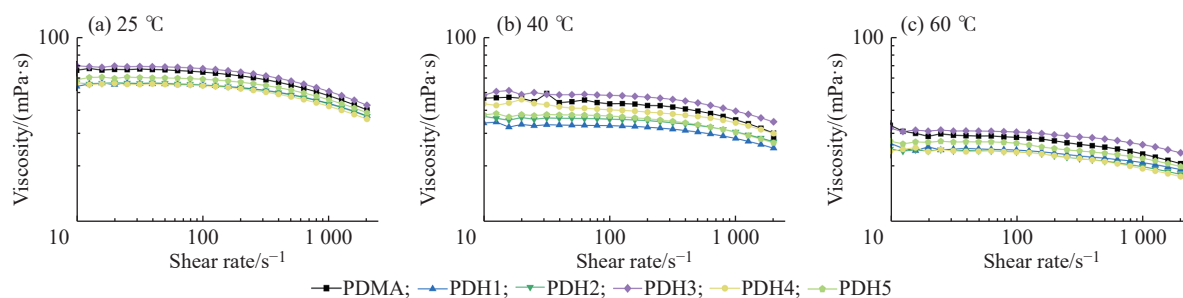


图 6 不同温度下, PDMA 和 PDH 溶液($\rho=0.04$ g/mL)的黏度-剪切速率曲线

Fig. 6 Viscosity and shear rate curves of PDMA and PDH solution ($\rho=0.04$ g/mL) at different temperatures

表 3 PDMA 和 PDH 溶液($\rho=0.04$ g/mL)在不同温度下幂律方程拟合参数

Table 3 Fitting parameters of the power-law equation for PDMA and PDH solution ($\rho=0.04$ g/mL) at different temperatures

Sample	25 °C		40 °C		60 °C	
	$k/(\text{Pa}\cdot\text{s}^n)$	n	$k/(\text{Pa}\cdot\text{s}^n)$	n	$k/(\text{Pa}\cdot\text{s}^n)$	n
PDMA	0.0714	0.9790	0.0468	0.9482	0.0341	0.9594
PDH1	0.0575	0.9909	0.0353	0.9854	0.0298	0.9538
PDH2	0.0587	0.9867	0.0370	0.9934	0.0294	0.9516
PDH3	0.0731	0.9831	0.0504	0.9904	0.0349	0.9680
PDH4	0.0581	0.9869	0.0439	0.9151	0.0295	0.9502
PDH5	0.0627	0.9878	0.0393	0.9891	0.0307	0.9668

2.4 PDH 溶液的黏弹性

PDMA 和 PDH 溶液($\rho=0.04$ g/mL)的频率扫描曲线如图 7 所示。在 25、60 °C 下, PDMA、PDH1 和 PDH5 溶液的 G' 和 G'' 均无交点, 说明 HEA 含量过小时, 可形成的分子间氢键数量少, 难以形成稳定的网络结构; HEA 含量过大时, 聚合物链间相互作用强于链与溶剂的相互作用, 导致网络结构的收缩, 无法形成稳定的网络结构。在 25 °C 下, PDH2、PDH3 的 G'' 始终高于 G' , 以黏性为主, 体系中的氢键可能限制聚合物链的运动,

不能形成弹性网络。PDH4 在 25 ℃ 下于高频区出现了黏弹转变且特征角频率(ω^*)为 59.1 rad/s, 表明其在短时松弛区间下能够表现出一定的弹性响应。这说明 HEA 含量较大的 PDH4 中, 较高密度的分子间氢键可作为瞬态物理交联点, 增强链间缠结并形成一定程度的可逆网络。当温度升高至 60 ℃ 时, PDH2 和 PDH3 分别在 ω^* 为 60.8、81.7 rad/s 处出现黏弹转变。升温过程会破坏体系中的部分氢键, 削弱链段运动所受的限制, 进而促进链间互穿, 最终实现有效缠结。同时, 未被破坏的氢键仍可作为动态交联点, 共同促进可逆网络形成。含有更多羟乙基侧基的 PDH3 氢键密度更高, 受温度影响更大, 使体系更偏向以黏性为主导, 需要更高的频率才能出现弹性响应, 所以 PDH3 的 ω^* 大于 PDH2 的相应值, 而 PDH4 体系中氢键大量解离, 其缠结网络不足以在缺少氢键支撑的条件下维持弹性响应, 故黏弹转变消失。

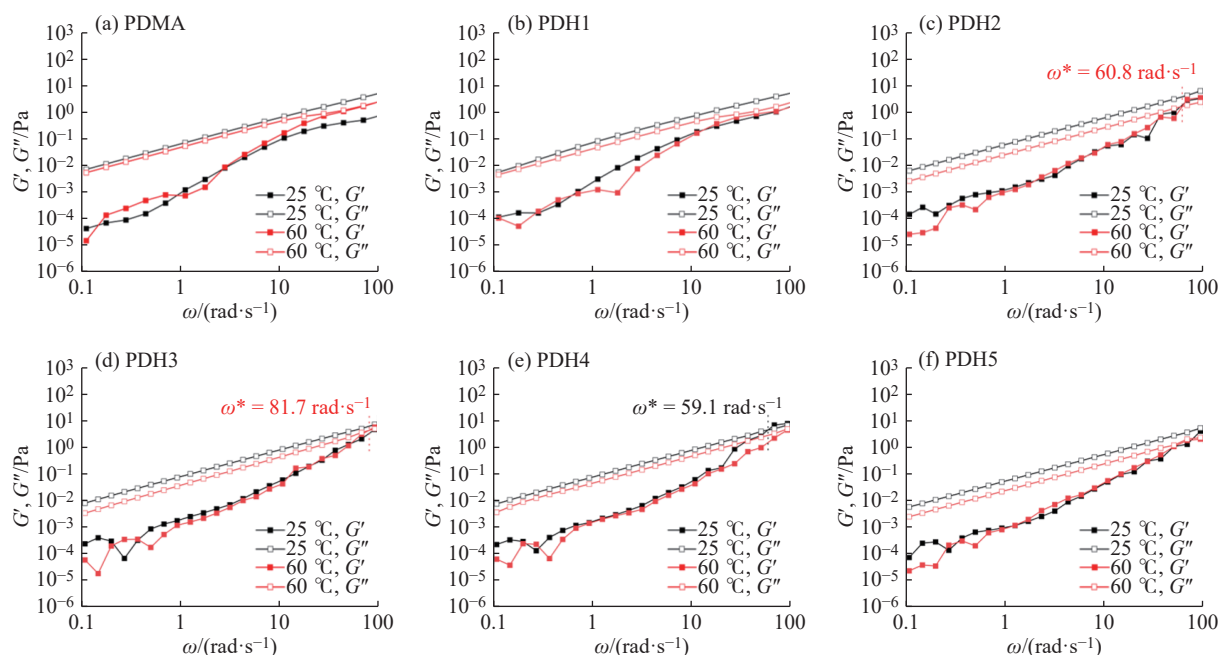


图7 25、60 ℃ 下, PDMA 和 PDH 溶液($\rho=0.04$ g/mL)的频率扫描曲线

Fig. 7 Frequency sweep curves of PDMA and PDH solutions ($\rho=0.04$ g/mL) at 25, 60 ℃

2.5 PDH 的 DNA 分离性能

对质量浓度为 0.04 g/mL 的 PDMA 和 PDH 筛分介质进行毛细管电泳分离 DNA 片段分析, 结果如图 8 所示。全部 DNA 片段峰及内标峰的峰高均大于 500 RFU(RFU 为相对荧光强度单位), 检测信号强度高、背景基线平稳, 不存在峰高超过 50 RFU 的干扰渗透峰, 符合 GB/T 37226—2018 规定的技术指标^[26]。此外, 采用纯水对测试后的毛细管进行洗脱并设置阴性对照, 结果显示电泳图基线平稳、无残留杂峰, 表明该聚合物筛分介质具备优良的洗脱性能, 可实现毛细管管内介质的快速更换。此外, 对各 DNA 片段的碱基数目与相应迁移时间进行线性拟合^[27], 每个样品回归系数(R^2)均大于 0.9998, 说明毛细管电泳过程中筛分体系稳定, 可以对 DNA 片段样品进行精确分析。

PDMA 和 PDH 分离 DNA 标准样品的分离度如图 9(a)所示。6 种筛分介质对于小片段 DNA 均表现出较好的分离性能, 但随着 DNA 片段长度的增加, 对大片段 DNA 的分离度有所降低。与均聚物 PDMA 相比较, 共聚物 PDH2、PDH3 对不同大小 DNA 片段的分离度较高, 其中 PDH3 分离度最高, 表明 HEA 的加入能够提高聚合物溶液的分离性能。该介质经高剪切条件注入毛细管后, 仍可形成稳定的筛分网络, 这与上述流变性能研究的结论一致: 适量引入 HEA 这一共聚单元, 通过氢键相互作用能够形成更稳定的聚合物网络结构。

PDMA 和 PDH 在基因分析仪中分离 DNA 标准样品, 各筛分介质的 ΔH 和迁移时间如图 9(b)所示。相比于 PDMA, PDH 的迁移时间有一定程度的增加, HEA 结构单元增加了氢键作用位点, 使聚合物链间相互作用能力增强, 导致筛分网络孔径减小, 进而延缓 DNA 迁移。随着 HEA 含量的增大, 筛分介质的迁移时间和 ΔH 有先增大后降低的趋势, 说明引入适量的 HEA 能够提升聚合物网络的稳定性, 出峰稳定, 这是由于在 60 ℃ 下, 低 HEA 含量的 PDH 筛分介质(PDH1、PDH2)的氢键受温度影响较小, 相比于均聚物 PDMA, 仍可以通过

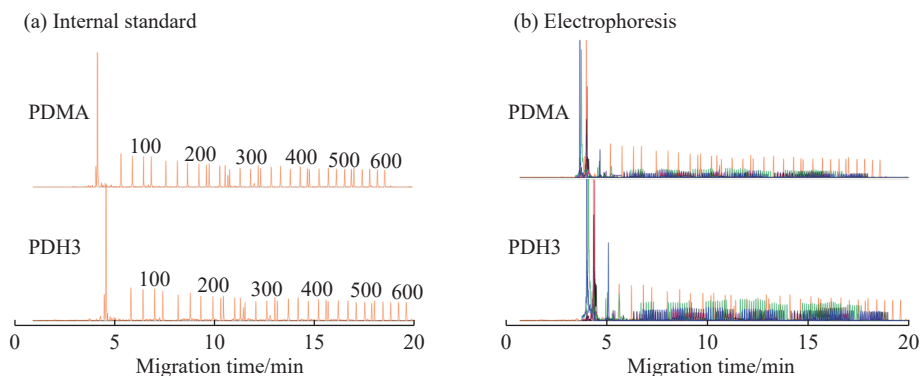
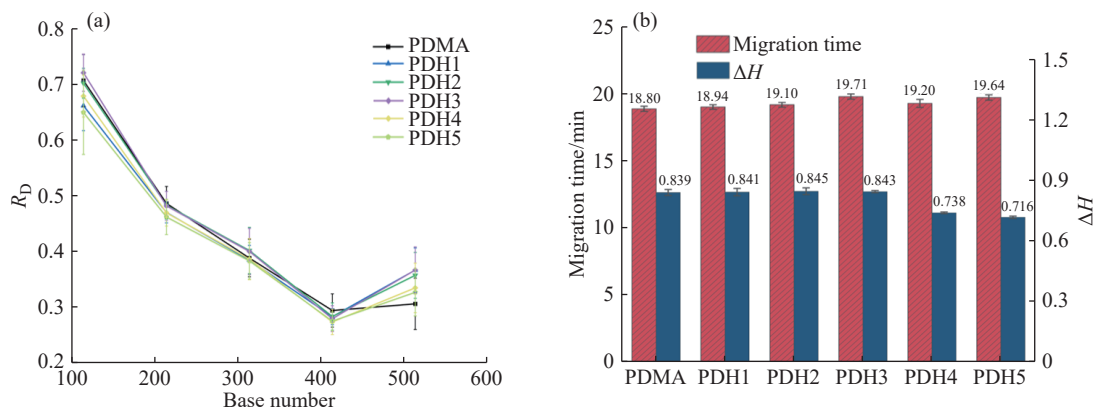


图 8 毛细管电泳分离 DNA 片段的(a)内标图及(b)电泳谱图

Fig. 8 (a) Internal standard profile and (b) electropherogram of DNA fragments separated by capillary electrophoresis

图 9 (a)筛分介质分离 DNA 片段的分离度($n = 16$); (b)迁移时间和峰衰程度($n = 16$)Fig. 9 (a) Resolution of screening media for DNA fragment separation ($n = 16$); (b) Migration time and peak intensity attenuation ($n = 16$)

氢键的动态重组提高筛分网络的稳定性。然而,在 60 ℃ 下,高 HEA 含量的 PDH 筛分介质(PDH4、PDH5)中大量氢键处于快速断裂和重组状态,导致筛分孔径稳定性下降,峰衰情况严重。PDH3 的峰衰程度和迁移时间的相对标准偏差(RSD)小,对 DNA 片段分离具有良好的重现性。

3 结 论

(1)制备了具有相近分子量的不同 HEA 结构单元含量的共聚物 P(DMA-*co*-HEA),随着 HEA 结构单元的增加,共聚物溶液体系中氢键也随之增多,升高温度会使部分氢键被破坏。

(2)在不同质量浓度和温度下,随着 HEA 含量的增大,聚合物的增黏能力均存在先增大再减小的趋势,表明适量的 HEA 结构单元能够通过氢键相互作用提高聚合物溶液的网络稳定性。在 25、60 ℃ 条件下,P(DMA-*co*-HEA)溶液的黏弹性表明适量的 HEA 能形成稳定的物理网络;而 HEA 含量过低或过高都会削弱链间缠结作用,导致体系主要表现为黏性主导的流体特性。

(3)适当的 HEA 引入可以提高共聚物对 DNA 片段的分离性能,其中 PDH3 的分离度最高、峰衰程度小、重现性良好,而 HEA 含量过高的 PDH 筛分介质的筛分网络不稳定,降低分离性能,峰衰情况严重。

参考文献:

- [1] JUNG J C, ZHANG K, CHON B H, CHOI H J. Rheology and polymer flooding characteristics of partially hydrolyzed polyacrylamide for enhanced heavy oil recovery [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 127(6): 4833-4839.
- [2] YE Z B, FENG M M, GOU S H, LIU M, HUANG Z Y, LIU T Y. Hydrophobically associating acrylamide-based copolymer for chemically enhanced oil recovery [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 130(4): 2901-2911.

- [3] WANG Q J, GAO G Y, FANG F, WANG Q Y, LUNDQUIST P K, SUN L L. A simple and efficient approach for preparing cationic coating with tunable electroosmotic flow for capillary zone electrophoresis-mass spectrometry-based top-down proteomics [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2024, 1328: 343162.
- [4] NUSRULLAH M, LU B, MIAO G L, BIBI A, WANG Y M. The study of acrylamide/(*N*-hydroxyethyl) acrylamide copolymer as a flocculant for kaolin suspensions [J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2025, 33(8): 3919-3931.
- [5] XU M Y, PAN W, TIAN Y C, CONG H L, YU B. Research advances in capillary electrophoresis coating technology for protein analysis [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2025: 1-24.
- [6] KE F Y, MO X L, YANG R M, WANG Y M, LIANG D H. Polymer mixtures with enhanced compatibility and extremely low viscosity used as DNA separation media [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(3): 520-527.
- [7] XU J, YANG L Y, LUO Z F, WANG Y M. Synthesis of poly (*N*, *N*-dimethylacrylamide)-block-poly (ethylene oxide)-block-poly (*N*, *N*-dimethylacrylamide) and its application for separation of proteins by capillary zone electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(10): 1713-1720.
- [8] SONG L G, LIANG D H, CHEN Z J, FANG D F, CHU B J M. DNA sequencing by capillary electrophoresis using mixtures of polyacrylamide and poly (*N*, *N*-dimethylacrylamide) [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 915(1-2): 231-239.
- [9] ALBARGHOUTH M N, BUCHHOLZ B A, DOHERTY E A S, BOGDAN F M, ZHOU H H, BARRON A E. Impact of polymer hydrophobicity on the properties and performance of DNA sequencing matrices for capillary electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(4): 737-747.
- [10] 苗贵兰, 陈学峰, 张吉保, 鲁斌, NUSRULLAH M, 龚昀晗, 朱良宇, 范倩云, 王延梅. 基于 *N*, *N*-二甲基丙烯酰胺聚合物溶液流变性能及其在毛细管电泳分离 DNA 中的应用 [J]. *功能高分子学报*, 2025, 38(5): 412-419.
- MIAO G L, CHEN X F, ZHANG J B, LU B, NUSRULLAH M, GONG Y H, ZHU L Y, FAN Q Y, WANG Y M. Rheological properties of polymer solution based on *N*, *N*-dimethylacrylamide and its application in DNA separation by capillary electrophoresis [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2025, 38(5): 412-419.
- [11] GHONIEM S, CHAUVETEAU G, MOAN M, WOLFF C. Mechanical degradation of semi-dilute polymer solutions in laminar flows [J]. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 1981, 59(4): 450-454.
- [12] GHONIEM S. Effect of deformation sequence on rheological behaviour and mechanical degradation of polymer solutions [J]. *Chemical Engineering Communications*, 1988, 63(1): 129-142.
- [13] SUN D X, WANG W Y, DONG K X, JIANG M Z, ZHOU D K, LI L Q. Adsorption behavior and shear degradation of ultrahigh-molecular-weight hydrolyzed polyacrylamide in a capillary flow [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2020, 137(2): 48270.
- [14] MEN G W, NIU W W, LIU X K. Hydrogen-bond-mediated polymers: Strengthening, toughening, and stabilizing effects [J]. *Chemistry: A European Journal*, 2025, 31(27): e202500674.
- [15] LIU X K, LI Y X, FANG X, ZHANG Z Q, LI S H, SUN J Q. Healable and recyclable polymeric materials with high mechanical robustness [J]. *ACS Materials Letters*, 2022, 4(4): 554-571.
- [16] ZHANG J J, XIAO S W, SHEN M X, SUN L, CHEN F, FAN P, ZHONG M Q, YANG J T. Aqueous lubrication of poly(*N*-hydroxyethyl acrylamide) brushes: A strategy for their enhanced load bearing capacity and wear resistance [J]. *RSC Advances*, 2016, 6(26): 21961-21968.
- [17] ALBARGHOUTH M N, BUCHHOLZ B A, HUIBERTS P J, STEIN T M, BARRON A E. Poly-*N*-hydroxyethylacrylamide (polyDuramide™): A novel, hydrophilic, self-coating polymer matrix for DNA sequencing by capillary electrophoresis [J]. *Electrophoresis*, 2002, 23(10): 1429-1440.
- [18] SONG W H, ZHOU D, PENG S H, WANG Y M. Effect of quasi-interpenetrating network of polyacrylamide and poly(*N*, *N*-dimethylacrylamide) on separation of dsDNA fragments and basic protein using CE [J]. *Journal of Separation Science*, 2009, 32(4): 671-680.
- [19] 陈浩, 吴雨晨, 朱良宇, 苗贵兰, 龚昀晗, 王延梅. 基于线形聚丙烯酰胺聚合物溶液流变学行为的影响因素 [J]. *功能高分子学报*, 2024, 37(4): 304-311.
- CHEN H, WU Y C, ZHU L Y, MIAO G L, GONG Y H, WANG Y M. Study on the influencing factors of rheological behavior based on linear polyacrylamide polymer solution [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2024, 37(4): 304-311.
- [20] 何平笙, 杨海洋, 朱平平, 翟保均. 高分子物理实验 [M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2002.
- HE P S, YANG H Y, ZHU P P, ZHAI B J. Polymer Physics Experiment [M]. Hefei: University of Science and Technology of China

Press, 2002.

- [21] 史铁钧, 吴德峰. 高分子流变学基础 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
SHI T J, WU D F. Fundamentals of Polymer Rheology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- [22] 宋伟华. LPA/PDMA 准互穿网络的制备及其用于生物大分子分离的研究 [D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2009.
SONG W H. The preparation of quasi-IPN of LPA and PDMA and its application in separation of biomacromolecules [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2009.
- [23] 翟正. 不同体系下氢键对聚丙烯酰胺光谱的影响 [J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(11): 3012-3016.
ZHAI Z. Effect of hydrogen bonding on the spectra of polyacrylamide in different systems [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(11): 3012-3016.
- [24] 唐忠利, 陈嘉诺, 张东辉, 李文彬. 改性纳米 SiO₂ 超支化共聚物在中低渗油藏提高采收率的性能研究 [J]. 天津大学学报, 2023, 56(10): 1013-1020.
TANG Z L, CHEN J N, ZHANG D H, LI W B. Enhanced oil recovery performance of modified nano-SiO₂ hyperbranched copolymers in medium-and low-permeability reservoirs [J]. Journal of Tianjin University, 2023, 56(10): 1013-1020.
- [25] ALI N, LIU Y T, WANG F Y, QI L. Chiral ligand-exchange capillary electrochromatography with thermo-responsive poly (*N*, *N*-dimethylacrylamide) as coating for efficient separation of D, L-amino acids [J]. Talanta, 2025, 293: 128090.
- [26] 法庭科学人类荧光标记 STR 复合扩增检测试剂质量基本要求: GB/T 37226—2018[S]. 北京: 国家市场监督管理总局、中国国家标准化管理委员会, 2018.
Criterion of forensic science human fluorescence STR multiplex amplification reagent: GB/T 37226—2018[S]. Beijing: State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China, 2018.
- [27] 江凤浩, 洪瀚, 姜伯玮, 苏朝晖. 基于温敏性 *N*, *N*-二甲基丙烯酰胺/*N*-异丙基丙烯酰胺无规共聚物的毛细管无胶电泳筛分介质 [J]. 应用化学, 2023, 40(9): 1312-1325.
JIANG F H, HONG H, JIANG B W, SU Z H. Thermoresponsive poly(*N*, *N*-dimethylacrylamide-co-*N*-isopropylacrylamide) for preparation of composite sieving media in non-gel capillary electrophoresis [J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2023, 40(9): 1312-1325.

(责任编辑: 王吉晶)