

# 二聚甘油亚油酸酯的分离纯化及其性质分析

万分龙, 滕英来, 汪勇, 李爱军, 张宁

(暨南大学食品科学与工程系, 广东广州 510632)

**摘要:** 采用 Lipozyme 435 脂肪酶催化合成的二聚甘油亚油酸酯, 先用薄层层析(TLC)对产物定性分析, 然后再用硅胶柱层析法对其进行分离纯化, 最后通过高效液相色谱(HPLC-ELSD)和质谱(ESI-MS)对纯化组分进行定性分析。薄层层析(TLC)分离二聚甘油酯的理想条件为: 点样量 3  $\mu\text{L}$ , 以氯仿/丙酮/甲醇(96/4/2, V/V/V)展开 15 min, 于碘缸中碘蒸汽显色 3 min; 硅胶柱层析分离二聚甘油酯的理想条件为: 2.0 g 样品溶于 5 mL 氯仿-丙酮溶液(96/4, V/V), 过硅胶层析柱(2.8 cm $\times$ 60 cm, 硅胶 200~300 目), 以不同体积比的氯仿/丙酮/甲醇(96/4/0, 95/3/2, 96/4/5)为洗脱液依次进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 按 10 mL/管收集流出液。同时对纯化后不同酯化度的二聚甘油酯进行 DSC 分析和 HLB 值测定, 结果表明: 随着酯化度的增加, 二聚甘油酯的相变温度相应的增大, 而 HLB 值反而相应的减小。

**关键词:** 二聚甘油亚油酸酯; 分离纯化; 高效液相色谱; 差示扫描量热法(DSC); 亲水亲油平衡值(HLB)

文章编号: 1673-9078(2015)1-59-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.012

## Separation, Purification, and Characterization of Diglycerol Linoleic Acid Esters

WAN Fen-long, TENG Ying-lai, WANG Yong, LI Ai-jun, ZHANG Ning

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Diglycerol linoleic acid esters synthesized by Lipozyme 435 were qualitatively analyzed by thin layer chromatography (TLC), and then separated and purified by silica gel column chromatography. Finally, the purified products were analyzed by high-performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD) and electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). The optimal TLC conditions for the separation of diglycerol linoleic acid ester were as follows: sample volume of 3  $\mu\text{L}$ , separation time by chloroform-acetone-methanol solution (96/4/2, V/V/V) of 15 min, coloring time by iodine vapor of 3 min. The optimal silica gel column chromatography conditions for the separation of diglycerol linoleic acid ester were as follows: 2.0 g of sample was dissolved in 5 mL of chloroform-acetone solution (96/4, V/V), separated by a silica gel column (2.8 cm $\times$ 60 cm, 200~300 mesh) using different mixtures of chloroform-acetone-methanol as the eluent (96/4/0, 95/3/2, 96/4/5, V/V/V) at a flow rate of 1.0 mL/min. Every 10 mL of eluted solution was collected in a tube. The obtained esters of diglycerol linoleic acid were analyzed by differential scanning calorimetry (DSC) and their hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values were determined. The results showed that with increasing degrees of esterification, the phase transition temperatures of diglycerol linoleic acid esters increased, while their HLB values decreased.

**Key words:** diglycerol linoleic acid esters; separation and purification; high performance liquid chromatography; differential scanning calorimetry; hydrophilic-lipophilic balance

聚甘油脂肪酸酯 (polyglycerol esters of fatty acids, PGE) 简称聚甘油酯, 是一类新型、安全、高效的非离子表面活性剂, 被广泛应用于食品、日用化工、医药和其它领域<sup>[1-3]</sup>。聚甘油酯兼有亲水、亲油双重特性,

收稿日期: 2014-06-17

基金项目: 教育部“新世纪优秀人才”支持计划 (NCET-12-0675); 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目 (2012A032300016); 广东省教育部产学研结合项目 (2012B091100035); 广州市科技计划项目 (2014Y2-00192)

作者简介: 万分龙 (1988-), 男, 硕士研究生, 研究方向为油脂生物炼制

通讯作者: 汪勇 (1977-), 男, 研究员, 从事油脂生物炼制教学与科研工作

具有良好的乳化、保湿、黏度调节等作用<sup>[4]</sup>。由于 PGE 比单甘酯含有更多的亲水性羟基, 所以其乳化性能更为优越<sup>[5]</sup>, 且可以通过改变甘油聚合度、脂肪酸种类及酯化度, 得到一系列不同亲水亲油平衡值 (HLB 值 2~16) 的聚甘油酯产品, 以满足各种特殊的需求<sup>[6]</sup>。其中二聚甘油酯是商品聚甘油酯的主要成分, 应用开发潜力很大, 已被广泛用作乳化剂、增稠剂、分散剂、保湿剂应用于化妆品、洗涤剂、医药和食品行业中<sup>[7-8]</sup>。

二聚甘油酯的制备方法主要包括化学法和酶法<sup>[9]</sup>, 虽然酶法克服了传统化学方法须在高温或者高压

下才能反应的弊端,减少了副反应的发生,而且催化剂易与产物分离,有利于提高产品质量。但是产生的二聚甘油酯仍然是包含有单酯、二酯及多酯的混合物,以及未反应的脂肪酸和聚甘油等杂质。而食品、化妆品、医药等行业对聚甘油酯产品的纯度具有较高的要求,且不同酯化度的单酯、二酯和多酯因其结构的差异而表现出不同的物理化学性质<sup>[7]</sup>,另外,二聚甘油酯的分离纯化是进一步研究其结构及功能性质的一种有效手段。因此,探究二聚甘油酯的分离纯化方法具有十分重要的理论及现实意义。然而,目前国内外对二聚甘油酯的分离纯化方面的研究鲜有报道,对聚甘油酯的性质研究也仅限于由单酯、二酯及多酯所组成的混合物<sup>[10-11]</sup>,这无疑限制了聚甘油酯的应用范围及其功能性质的进一步研究。

本文探讨了采用薄层层析法(TLC)定性分析酶法合成的二聚甘油亚油酸酯,硅胶柱层析法对其进行分离纯化,利用高效液相色谱(HPLC-ELSD)和质谱(ESI-MS)联用对纯化组分进行结构定性确认,并对分离纯化后得到的单酯、二酯和三酯的热性能及乳化性能做了研究。论文结果可以对聚甘油酯的应用特性研究提供重要参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂

Lipozyme 435 脂肪酶(原名为 Novozym 435),诺维信公司;亚油酸(纯度 95%),安庆市中创生物工程有限公司;二聚甘油,济南东润精化科技有限公司;乙腈、异丙醇和甲醇均为色谱纯,天津市富宇精细化工有限公司;硅胶(试剂级,200~300目),青岛海洋化工厂;薄层层析硅胶板 GF254,烟台市化学工业研究所。

### 1.2 仪器、设备

SZCL-2 数显职能恒温磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司;DT5-4 低速自动平衡离心机,北京时代北利离心机有限公司;EL104 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;GC-7820A 气相色谱,美国安捷伦公司;LC-20AT 液相色谱,日本岛津公司;Alltech ELSD 3300 蒸发光散射检测器,美国奥泰科技有限公司(中国);4000 QTRAP 质谱仪,AB SCIEX 公司;梅特勒-托利多差示扫描量热仪(DSC),梅特勒-托利多(中国)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 二聚甘油原料分析

采用参考文献<sup>[12]</sup>的分析方法,利用气相色谱法(GC)分析二聚甘油原料的组成。

气相色谱条件:AT-Wax 毛细管柱(15 m×0.32 mm, 0.25 μm);进样量:0.5 μL;载气(高纯 N<sub>2</sub>);氢火焰检测器温度:280 °C;进样口温度:280 °C;进样口压力:20 psi;采用分流模式(分流比 20:1)。以面积归一法计算各个组分的相对含量。

#### 1.3.2 非溶剂体系酶法合成二聚甘油亚油酸酯

称取二聚甘油(20.0 g)和亚油酸(15.0 g)于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 2 wt%(占底物总质量)Lipozyme 435 脂肪酶作催化剂,通过恒温磁力搅拌器控制温度和搅拌转速(300 r/min),在 90 °C(该酶表现出较高活性)并抽真空条件下反应 4 h。反应结束后,将反应混合物在 3000 r/min 下离心 15 min 分层,下层为未反应的二聚甘油,取上层液,得到二聚甘油酯混合产物,其中包含有少量的三聚甘油酯和四聚甘油酯等杂质。

#### 1.3.3 二聚甘油酯的薄层层析(TLC)定性分析

将购买的薄层层析板切割为 25 mm×75 mm 的小薄板,并于烘箱中 110 °C 活化 1 h 后,放置于干燥器中备用。用 0.3 mm 的毛细管在薄板的近底端点样 3 μL,尝试在不同比例的氯仿/丙酮/甲醇(v/v/v)展开液中展开 15 min,然后放置于碘缸中碘蒸汽显色 3 min。

#### 1.3.4 二聚甘油酯的柱层析分离方法

取二聚甘油酯产物 2.0 g 溶于 5 mL 氯仿-丙酮溶液(96/4, v/v),上硅胶层析柱(2.8 cm×60 cm,硅胶 200~300 目)进行分离提纯。以二聚甘油单酯、二酯和三酯为目标产物,参考 Meulenaer 等人<sup>[13]</sup>的洗脱方法并进行优化,按照洗脱剂的极性大小,依次用氯仿-丙酮(96/4, v/v),氯仿-丙酮-甲醇(95/3/2, v/v/v)和氯仿-丙酮-甲醇(96/4/5, v/v/v)进行梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,按 10 mL/管收集洗出液,经 TLC 定性检测后,分段收集相应组分。

#### 1.3.5 二聚甘油酯的 HPLC-ELSD 和 ESI-MS 分析

将待测样品溶于甲醇(色谱纯)配成 1.0 mg/mL 的溶液,并通过 0.22 μm 的微孔过滤膜。

HPLC 条件为:色谱柱 Diamonsil C18(2)(150 mm×4.6 mm, 5 μm);ELSD 检测器:漂移管温度 70 °C,气体流速 1.7 mL/min;等度洗脱:流动相为乙腈:异丙醇(55/45, v/v),流速 1.0 mL/min,柱温 40 °C。

质谱条件为:电喷雾(ESI)离子源;采用正离子模式;质量扫描范围 m/z 100~2000;毛细管电压 40 V;

锥孔电压 5500 V; 毛细管温度 250 °C。

### 1.3.6 二聚甘油酯的 DSC 分析

准确称取 5~7 mg (精确到 0.01 mg) 样品平铺于铝坩埚内并加盖密封, 用空坩埚作为参比, 按如下方法进行分, 每个样品平均测试两次。

DSC 参数: 氮气 (高纯 N<sub>2</sub>) 流量 45 mL/min, 机械制冷降温; 温度程序为: 从初始温度 25 °C 以 -10 °C/min 降温至 -60 °C, 保持 10 min, 再以 5 °C/min 升温至 80 °C, 保持 10 min, 再以 -10 °C/min 降温至 -60 °C。

### 1.3.7 HLB 值的测定

二聚甘油亚油酸酯 HLB 值的测定方法参考文献<sup>[14]</sup>, 按照如下 Griffin 公式进行计算:

$$HLB=20 \times (1-S/A)$$

式中: S 为二聚甘油亚油酸酯的皂化值; A 为亚油酸的酸值。

### 1.3.8 数据分析方法

采用 Microsoft Excel 2010 软件对数据进行处理和分析, 结果数据为平均值 (n=3)。

## 2 结果与分析

### 2.1 二聚甘油原料组成分析

利用气相色谱法分析二聚甘油原料组成, 结果见表 1。由表 1 可知, 原料中主要以二聚甘油和三聚甘油为主, 并含有少量的甘油和四聚甘油。

表 1 二聚甘油原料的组成成分

Table 1 Composition of diglycerol starting materials

原料组成	甘油	二聚甘油	三聚甘油	四聚甘油
含量/wt%	1.55±0.22	69.00±0.21	23.79±0.06	5.67±0.05

注: 表中数据为平均值±标准偏差, (n=3)。

### 2.2 二聚甘油酯产物 HPLC-ELSD 分析

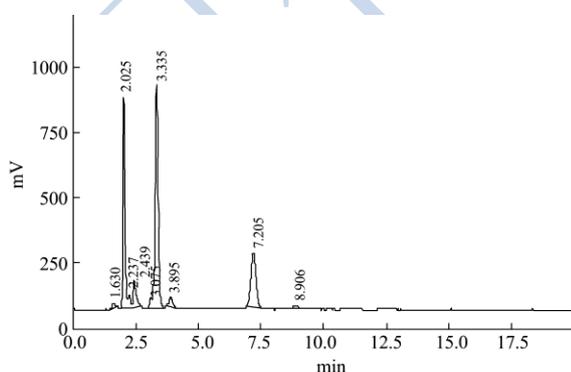


图 1 二聚甘油亚油酸酯的 HPLC-ELSD 分析图谱

Fig.1 HPLC-ELSD of diglycerol linoleic acid esters

将二聚甘油酯产物进行 HPLC-ELSD 分析, 结果如图 1 所示。图 1 中出现三个主要的峰, 依据 C18 柱

的分离原理推测其分别对应为二聚甘油单酯、二酯和三酯, 所占的面积比分别为 26.6%、43.2% 和 17.7%。而其它小峰可能为三聚甘油酯和四聚甘油酯等所对应的峰, 其相对含量较低。

### 2.3 二聚甘油酯混合物 TLC 的定性分析

由于 TLC 的分离效果主要由被分离物质的极性、吸附剂的活性和展开剂的极性所决定, 而二聚甘油酯的极性和硅胶的吸附活性都是恒定的, 因此主要通过选择合适的展开剂来提高分离效果。本试验尝试了不同比例的氯仿/丙酮/甲醇 (v/v/v) 作为展开剂: ①氯仿/丙酮=96/4; ②氯仿/丙酮/甲醇=95/3/2; ③氯仿/丙酮/甲醇=96/4/2; ④氯仿/丙酮/甲醇=96/4/3。结果表明以上各种展开剂均能分离二聚甘油单酯、二酯和三酯, 但④的分离效果最好, 因此选择氯仿/丙酮/甲醇=96/4/2 (v/v/v) 作为展开剂。在该展开剂条件下, TLC 定性分析结果见图 2, 其中 a 为二聚甘油三酯, b 为二聚甘油二酯, c 为二聚甘油单酯。

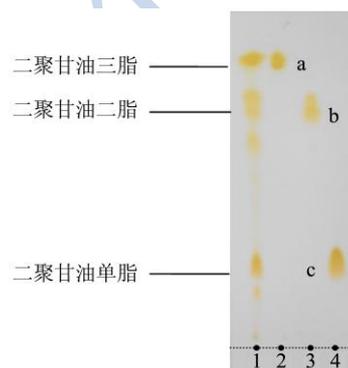


图 2 二聚甘油亚油酸酯的 TLC 分离结果

Fig.2 TLC of diglycerol linoleic acid esters

注: 1 为二聚甘油亚油酸酯产物; 2、3、4 分别为二聚甘油亚油酸三酯、二酯和单酯 (分离纯化后的样品)。

### 2.4 二聚甘油酯的 ESI-MS 分析

将分段收集到的组分 a、b、c 分别采用 ESI-MS 进一步定性分析。结果见图 3 (a~c), 其中图 a、b、c 分别对应为组分 a、b、c 的质谱图。

根据二聚甘油亚油酸酯的相对分子量可推知: 在图 3a 中, m/z 954.3、971.2、976.2 分别对应为二聚甘油亚油酸三酯 [M+H]<sup>+</sup>、[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>、[M+Na]<sup>+</sup> 离子峰; 图 3b 中, m/z 673.8、691.8、713.8、745.8 分别对应为二聚甘油亚油酸二酯 [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>、[M+H]<sup>+</sup>、[M+Na]<sup>+</sup>、[M+CH<sub>3</sub>O+Na]<sup>+</sup> 离子峰; 图 3c 中, m/z 411.4、429.4、446.6 分别对应的是二聚甘油亚油酸单酯 [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>、[M+H]<sup>+</sup>、[M+H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> 离子峰。因此, 综上所述可进一步确定组分 a、b、c 分别对应为二聚

甘油亚油酸三酯、二酯和单酯。

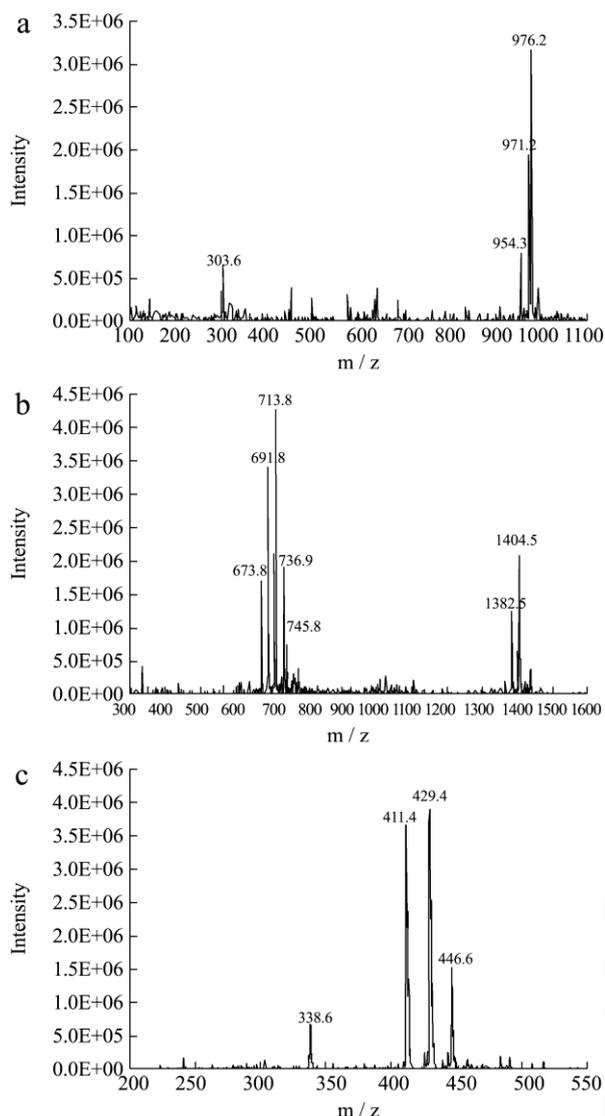


图3 二聚甘油亚油酸酯的ESI-MS正离子峰图谱

Fig3 ESI-MS cation spectra of diglycerol linoleic acid esters

注：图 a、b、c 分别对应为组分 a、b、c 的质谱图。

### 2.5 二聚甘油酯的硅胶柱层析分离效果

将分段收集到的组分 a, b, c 分别进行液相分析, 结果如图 4 (a~c) 所示, 其中图 a, b, c 分别对应为组分 a, b, c 的液相图谱。由图 4 可见, 在二聚甘油单酯、二酯和三酯所对应的保留时间处均只出现一个峰, 且无其它明显杂峰, 表明利用氯仿-丙酮 (96/4, v/v), 氯仿-丙酮-甲醇 (95/3/2, v/v/v) 和氯仿-丙酮-甲醇 (96/4/5, v/v/v) 进行梯度洗脱时, 可以收集到纯度较高的二聚甘油单酯、二酯和三酯, 在 HPLC-ELSD 分析图谱中均只有一个峰出现。二聚甘油酯的洗脱顺序依次为三酯、二酯和单酯。这是由于随着酯化度的增加, 二聚甘油酯的极性相应的减小, 而硅胶层析柱属于正相分离柱, 所以极性较小的二聚

甘油三酯会先洗脱出来, 依次是二聚甘油二酯和二聚甘油单酯。

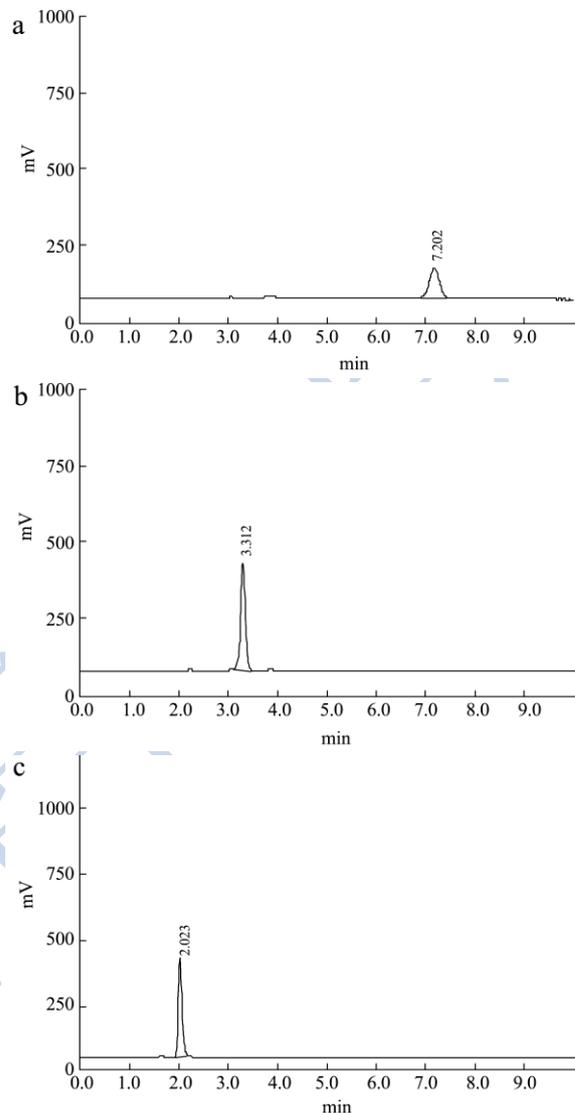


图4 纯化后的二聚甘油亚油酸酯 HPLC-ELSD 分析图谱

Fig4 HPLC-ELSD spectra of purified diglycerol linoleic acid esters

注：图 a、b、c 分别对应为二聚甘油亚油酸三酯、二酯和单酯的 HPLC-ELSD 分析图谱。

### 2.6 二聚甘油酯 DSC 分析

对样品进行 DSC 测定时, 先降温至 -60 °C (制冷机的最低温度), 用以消除其热历史, 取第二次测定的 DSC 曲线为准。结果见图 5 (a~b), 其中图 a、b 分别为二聚甘油亚油酸酯的升温曲线和降温曲线图。

由图 5 可知, 二聚甘油单酯、二酯和三酯都没有明显的熔融峰和结晶峰, 只是表现出相应的相转变, 且相转变温度 (均取峰值温度) 随着酯化度的增加而相应增大。一方面, 这可能是由于甘油聚合方式和亚油酸酯化位置的不同, 产生了多种极性相似的二聚甘

油单酯、二酯和三酯的同分异构体(图6)。因此,通过硅胶层析柱分离纯化后得到的二聚甘油单酯、二酯和三酯仍然都是含有多种同分异构体的混合物,导致其没有固定的熔点和结晶点。另一方面,随着二聚甘油酯的酯化度增加,其分子量相应的增大,相变温度也随之增大<sup>[15]</sup>。由于二聚甘油亚油酸酯在室温下是油状液体,且DSC曲线中无明显的结晶峰,甚至在低温(-60℃)下仍没有发生明显的结晶,因此可作为添加剂应用于冷冻食品中,改善冷冻食品的品质及储藏稳定性<sup>[16]</sup>。Katsuyoshi等人<sup>[17]</sup>研究结果也表明添加少量(0.2 wt%)聚甘油酯作为乳化剂可以有效抑制富含甘油二酯的油发生结晶现象。

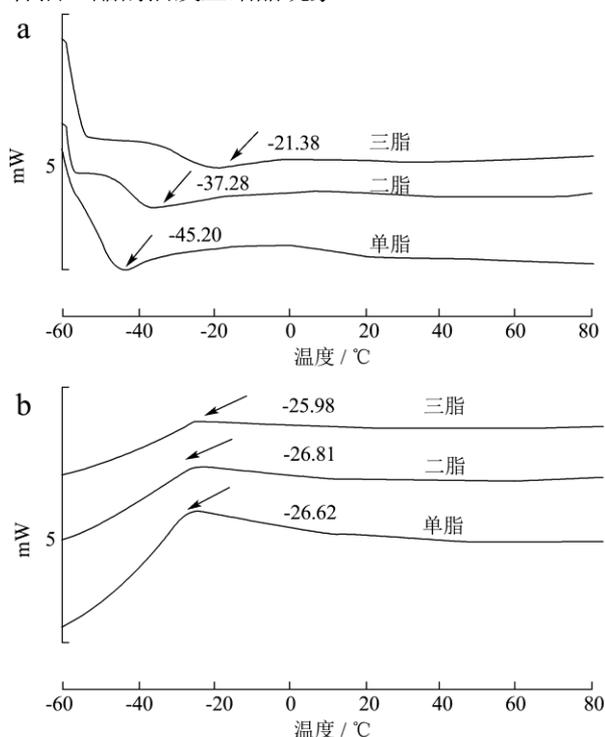


图5 纯化后二聚甘油亚油酸酯的DSC曲线

Fig.5 DSC curves of diglycerol linoleic acid esters after purification

注: 图a为升温曲线; 图b为降温曲线。

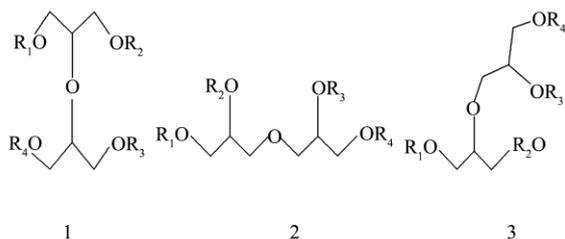


图6 二聚甘油亚油酸酯的分子结构

Fig.6 Molecular structures of diglycerol linoleic acid esters

注: 式中R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>=H或亚油酸酰基。

## 2.7 二聚甘油酯的HLB值

亲水亲油平衡值(HLB)是表面活性剂的重要参数,可以用来表征聚甘油酯产品作为乳化剂的乳化性能<sup>[14]</sup>。采用Griffin公式计算得到二聚甘油亚油酸酯的HLB值结果如表2所示。

表2 不同酯化度的二聚甘油亚油酸酯的HLB值

Table 2 HLB values of diglycerol linoleic acid esters with different degrees of esterification

	二聚甘油亚油酸单酯	二聚甘油亚油酸二酯	二聚甘油亚油酸三酯
HLB值	7.62±0.06	6.23±0.03	4.52±0.04

注: 表中数据为平均值±标准偏差, (n=3)。

由表2可知,随着酯化度的增加,二聚甘油酯的HLB值反而相应的减小。其中二聚甘油单酯(HLB=7.6)可作为水包油型(O/W)乳化剂,而二聚甘油三酯(HLB=4.5)却是一种油包水型(W/O)乳化剂。表明通过改变聚甘油酯的酯化度,可以获得不同HLB值的聚甘油酯产品,使它成为水包油型或油包水型乳化剂。由于HLB值主要取决于分子中亲水基的亲水性和亲油基的疏水性的相对强弱<sup>[18]</sup>,二聚甘油单酯含有较多的极性羟基(-OH),从而具有较高的HLB值;而二聚甘油三酯中亲油性的脂肪酰基较多,所以具有较低的HLB值,因此主要被用作油包水型乳化剂。

## 3 结论

本文对酶法合成二聚甘油亚油酸酯的分离纯化作了研究,采用薄层层析(TLC)和硅胶柱层析法对产物进行了定性分析和分离纯化,确定了较优分离条件为:2.0 g样品溶于5 mL氯仿-丙酮溶液(96/4, v/v)上硅胶层析柱(2.8 cm×60 cm,硅胶200~300目),以不同体积比的氯仿/丙酮/甲醇(96/4/0, 95/3/2, 96/4/5)为洗脱液进行梯度洗脱,采用TLC(氯仿/丙酮/甲醇, 96/4/2, v/v/v)进行定性检测,可以依次收集到纯度较高的二聚甘油三酯、二酯和单酯。通过高效液相色谱(HPLC-ELSD)和质谱(ESI-MS)对纯化组分进行结构定性分析。随着酯化度的增加,二聚甘油酯的相变温度相应的增大,而HLB值反而相应的减小,通过改变聚甘油酯的酯化度可以得到不同HLB值的聚甘油酯产品,使它成为水包油型或油包水型乳化剂。

## 参考文献

[1] Michael M, Maria SA, Anokhina MG. Calorimetric study of

- the interactions between small-molecule surfactants and sodium caseinate with reference to the foaming ability of their binary mixtures [J]. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19: 441-453
- [2] Richardson G, Bergenstahl B, Langton M, et al. The function of a crystalline emulsifiers on expanding foam surfaces [J]. *Food Hydrocolloids*, 2004, 18: 655-663
- [3] 周立国,张剑文,谭琛.各种聚甘油酯在保湿护肤化妆品中的应用研究[J].*山东轻工业学院学报*,2009,23(4):67-69  
ZHOU Li-guo, ZANG Jian-wen, TAN Chen. Various application study on poly glycerol ester in keeping moisture of skin cosmetics [J]. *Journal of Shandong Institute of Light Industry*, 2009, 23(4): 67-69
- [4] Carlos M áquez-Alvarez, Enrique Sastre, Joaqu ín P érez-Pariente. Solid catalysts for the synthesis of fatty esters of glycerol, polyglycerols and sorbitol from renewable resources [J]. *Topics in Catalysis*, 2004, 27(14): 105-118
- [5] Yutaka Yamagata, Katsumi Iga, Yasuaki Ogawa. Novel sustained-release dosage forms of proteins using poly glycerol esters of fatty acids [J]. *Journal of Controlled Release*, 2000, 63(3): 319-329
- [6] 肖凯军,郭丹丹,刘晓红,等.聚甘油酯合成及特性研究[J].*现代食品科技*,2008,24(10):966-968  
XIAO Kai-jun, GUO Dan-dan, LIU Xiao-hong. Synthesis and property of poly glycerol ester [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2008, 24(10): 966-968
- [7] 邴伟章.聚甘油的生产、性质及其酯的应用[J].*日用化学品科学*,1999,6:6-8  
LI Wei-zhang. The production, performance and application of poly glycerol and poly glycerol esters [J]. *Detergent Cosmetics*, 1999, 6: 6-8
- [8] Hemker W. Associative structures of poly glycerol esters in food emulsions [J]. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 1981, 58(2): 114-119
- [9] Charlemagne D, Legoy MD. Enzymatic synthesis of poly glycerol fatty acid esters in a solvent-free system [J]. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 1995, 72(1): 61-65
- [10] 蔡云升,卜永士.聚甘油脂肪酸酯在食品中的应用[J].*食品工业科技*,2003,7:54-56  
CAI Yun-shen, BU Yong-shi. Application of poly glycerol fatty acid ester in food [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2003, 7: 54-56
- [11] 周燕霞,崔正刚,陈莉.聚甘油脂肪酸酯合成及应用[J].*粮食与油脂*,2008,7:6-10  
ZHOU Yan-xia, CUI Zheng-gang, CHEN Li. Synthesis and application of poly glycerol fatty acid ester [J]. *Journal of Cereals and Oils*, 2008, 7: 6-10
- [12] 肖伊莎,汪勇,张广文,等.低聚甘油的碱催化制备和分离纯化研究[J].*农业机械*,2012,18:63-67  
XIAO Yi-sha, WANG Yong, ZHANG Guang-wen, et al. Alkali catalyst preparation and purification of low poly glycerol [J]. *Agricultural Machinery*, 2012, 18: 63-67
- [13] Bruno De Meulenaer, Geert Van Royen, Bert Vanhoutte, et al. Combined liquid and gas chromatographic characterisation of poly glycerol fatty acid esters [J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 239-251
- [14] W C Griffin. Calculation of HLB values of non-ionic surfactants [J]. *Journal of Society of Cosmetic Chemists*, 1954, 5: 249-256
- [15] Mitsuhiro Sakamoto, Azusa Ohba, Juhei Kuriyama, et al. Influences of fatty acid moiety and esterification of poly glycerol fatty acid esters on the crystallization of palm mid fraction in oil-in-water emulsion [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2004, 37: 27-33
- [16] 杨协力,朱文学,刘丽莉. DSC 在食品加工与贮藏中的应用及发展趋势[J].*保鲜与加工*,2008,8(4):1-4  
YANG Xie-li, ZHU Wen-xue, LIU Li-li. Research development and application of dsc in food processing and storage [J]. *Storage Process*, 2008, 8(4): 1-4
- [17] Katsuyoshi Saitou, Rika Homma, Naoto Kudo, et al. Retardation of crystallization of diacylglycerol oils using poly glycerol fatty acid esters [J]. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 2014, 91: 711-719
- [18] Yutaka Yamagata, Katsumi Iga, Yasuaki Ogawa. Novel sustained-release dosage forms of proteins using poly glycerol esters of fatty acids [J]. *Journal of Controlled Release*, 2000, 63: 319-329