الادمصاص الكروماتوجرافى باستخدام أيون الفضة

Silver ion adsorption chromatography

يعتبر التحليل الكروماتوجرافى باستخدام أيون الفضة من أفضل الطرق لفصل الجلسريدات الثلاثية ، ويستخدم أيون الفضة على نطاق واسع فى الفصل الكروماتوجرافى للتعرف على تركيب الجلسريدات الغير مشبعة فى الليبيدات الطبيعية .

وبدأ إستخدام هذه الطريقة إعتبارا من سنة ١٩٦٢ بواسطة De Vries and Barrett وتبنى هذه الطريقة على أساس الارتباط الضعيف weak interaction بين أيون الفضة والكترونات π للروابط الزوجيه والثلاثية والادمصاص الكروماتوجرافى باستخدام أيون الفضة يتم بنقع أو تشرب نترات الفضة على مادة الادمصاص مثل ح . السيليسيك أو الفلوريزيل Florisil وذلك بعد إختيار أفضل نظام من المذيبات يعطى فصل لليبيدات إلى أقسامها تبعا لعدد الروابط الزوجية فى الجزىء number of double bonds per molecule وبالتالى يمكن إستخلاص الليبيدات المفصوله من المواد الادمصاصية المحتويه على أيونات الفضه بدون تغيير كيماوى Chemical alteration فى نظامها الغير المشبع .

أولا - الطرق Methods

أ - إختيار الطريقة Choice of Method

يستخدم كلا من التحليل الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقه TLC والعمود الكروماتوجرافى Column المحتوى على نترات فضة فى فصل الجلسريدات الثلاثية والجدير بالذكر أن إختيار الطريقة المناسبة يعتمد على نوع الفصل المطلوب Resolution desired وكميات amounts المواد المراد فصلها .

ا - طريقة العمود الكروماتوجرافى Column Chromatography

مميزات الطريقة :

١ - تستخدم لفصل كميات كبيرة من العينات تتراوح بين ٨٠ - ١٥٠ ملليجرام .

٢ – إحتمال الاكسدة للجلسريدات ضعيف بواسطة أكسوجين الهواء الجوى .

عيوب الطريقة :

١ – عملية الفصل بطيئة وشاقة Difficult to Monitor .

٢ – يعطى فصل غير حاد Poor resolution أى يحدث تداخل بين المركبات المفصولة.

٢ - طريقة التحليل الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة TLC

مميزات الطريقة :

٢ – تعطى فصل سريع وممتاز .

٢ – أكثر دقة من العمود الكروماتوجرافى .

٢ – سهولة التعرف على الجلسريدات المفصوله .

عيوب الطريقة :

١ – تفصل كميات قليلة Less capacity .

٢ – تكون الجلسريدات أكثر تعرضا للاكسدة بالاكسجين الجوى عن العمود الكروماتوجرافى .

ويفضل الباحثون إستخدام طريقة TLC لسرعتها ودقتها Speed and resolution ويمكن تقليل الاكسدة باتمام كل العمليات فى جو خالى من الاكسجين ومشبع بواسطة النتروجين ويمكن إستخدام من ٢ – ٥ ألواح وبسمك المادة الادمصاصية ١ مم لفصل ٢٠ – ١٠٠ ملليجرام من العينة كما فى حالة العمود الكروماتوجرافى .

ثانيا : التحليل الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة

Thin - Layer chromatography

ا - مواد الادمصاص Adsorbent

يتم تشبع ألواح الفصل بنترات الفضة التى عادة تحضر بخلط حامض السيليسيك مع محلول مائى من نترات الفضة حيث يتم فردها على الالواح وأن إضافة نترات الفضة بتركيز أعلى من ٢٪ (نترات الفضة : حامض سيليسيك = ٢ : ٩٨ وزن / وزن) الى مادة الادمصاص

obeikandl.com

تعطى نفس كفاءة الفصل لعينة معينه ويعتبر مستوى ٥٪ من نترات الفضة هو التركيز الأمثل والاقتصادى Optimum and economic وأن التركيزات العالية تكون مفيدة لفصل أنواع معينة من الجلسريدات فمثلا ٨٪ نترات الفضة يكون مناسبا لفصل الجلسريدات عالية عدم التشبع highly unsaturated .

كما أن التركيز من ٢٠ – ٣٠٪ نترات الفضة يكون مناسبا لفصل المتشابهات الموضعية Positional isomers التى بها روابط زوجية ويمكن زيادة كفاءة الفصل باضافة محلول ٣٠٪ إيدروكسيد أمونيوم إلى نترات الفضة لان وجود أيون $Ag(NH_3)^+$ يؤدى إلى تكوين معقد أقوى Stronger عن إضافة أيون الفضة بمفردة مع الروابط غير المشبعة . يتم تشرب الواح TLC بنترات الفضه إما عن طريق الرش Spraying أو الغمر Developing ويكون سمك مادة الادمصاص ٠٫٢٥ مم لاغراض التحليل Analytical ومن ٥ر – ١ سمك فى حالة الاغراض التحضيرية Preparative .

مشاكل استعمال نترات الفضة

١ – تسبب تآكل Corrode لجدر الـ Spreader المعدنية .

ويمكن حل هذه المشكلة باستخدام Spreaders مصنوعة من بلاستيك أو زجاج أو الصلب الذى لا يصدأ .

٢ – تفقد مادة الادمصاص المحتويه على نترات الفضة نشاطها inactivated بتعرضها للضوء والتغلب على هذه المشكلة تخزن مواد الادمصاص بعيدا عن الضوء فى مكان مظلم .

٣ – يجب تنشيط الواح الفصل المحتويه على نترات الفضة بتسخينها لمدة ٢ – ٤ ساعات على ١٩٠ – ١٩٥ مْ بدلا من ١٠٠ – ١٢٠ مْ لمدة نصف ساعة لأن ذلك يؤدى الى فصل عالى Better resolution للجلسريدات الثلاثية ونتيجة لجفاف greater dehydration حامض السيليسيك العالى على ١٩٠مْ يؤدى الى إنخفاض حاد فى تكوين روابط إيدروجينية بين مادة الادمصاص والجلسريدات الثلاثية مما يؤدى إلى تكوين معقد بين الكترونات π للبيبدات غير المشبعة وأيون الفضة .

٢ – المذيبات Solvents

يوجد نوعان من مخاليط المذيبات والتى تستخدم لفصل الجلسريدات الثلاثية باستخدام مادة إدمصاصية محتوية على نترات الفضة .

١ – كلوروفورم يحتوى على صفر – ٦٪ ميثانول أو إيثانول أو أسيتون .

obeikandl.com

٢ – مخاليط مختلفة من البنزين / إيثير .

والجدول (٢٢) يبين الانظمة المختلفة من المذيبات لفصل الجلسريدات الثلاثية التى تختلف فى درجة عدم التشبع .

جدول(٢٢)

عدد الروابط الزوجية بجزىء الجلسريدات الثلاثية	مخاليط المذيبات كلوروفورم / ميثانول / إيثانول / حامض خليك	بنزين / إثير
صفر – ٤	١٠٠ / صفر الى ٩٩/١	١٠٠ صفر الى ٨٠/ ٢٠
١ – ٦	٩٩,٢ / ٨رالى ٩٨,٥ / ١,٥	٩٠/١٠ الى ٨٠/٢٠
٥ – ٩	٢,٥ / ٩٧,٥	صفر/١٠٠
٧ – ١٢	٦/٩٤	

* يحتوى الكلوروفورم على ٥ر – ١٪ إيثانول كمثبت Stabilizer

٣ – عملية الفصل Separation Procedure

للحصول على الفصل الجيد يجب أن يكون تركيز عينة الجلسريدات الثلاثية قليل فى صورة بقع Spot أو شريط band وفى التحليلات العادية Routine analysis يجب أن يكون قطر البقعة قليل وتوضع بالقرب من الحافة السفلى للوح باستخدام أنبوبة شعرية أو ماصه دقيقة Micro syringe ويتم وضع الجلسريدات المذابة فى مذيب مناسب ويكون تركيزها ٣ – ٣٠ ميكروجرام على اللوح .

وللعمل التحضيرى Preparative work يستخدم ٣٠ – ١٠٠ ملليجرام من الجلسريدات الثلاثية وتفصل developed على ألواح أبعادها ٢٠ × ٢٠ سم أو ٢٠ × ٤٠ سم بسمك ١ مم من المادة الادمصاصية .

توضع الالواح فى حجرة الكروماتوجرافى القياسية المحتوية على المذيب المناسب التى سبق إمرار تيار من النيتروجين داخلها لازاحة الاكسجين لمنع الاكسدة وتكرار خطوه الفصل بنفس الطور المتحرك يعطى فصل أفضل وبعد تمام الفصل تجفف الواح TLC بواسطة تيار من النيتروجين ويتحدد Locate مواضع الجلسريدات الثلاثية TG بعدة طرق وأكثر الطرق التى لا تسبب تكسير أو تغير فى المركبات non-destructive هى طريقة الرش بمحلول ٢ ,٧ ثنائى

كلوروفلورسين ٠٫٠٥٪ فى الميثانول / ماء - ٥٠/٥٠) ثم تعرض Viewing للاشعة فوق البنفسجية فتظهرالليبيدات كنقط صفراء على أرضية قرمزية وكذلك استخدام رودامين 6G ثنائى بروموفلورسين وصوديوم فلورسين للتعرف على المركبات المفصولة .

- وتشمل الطرق التى تغير فى التركيب الكيماوى Destructive methods لتحديد مواضع الجلسريدات الثلاثية على ما يلى :

- إستعمال اللهب بامراره على أماكن الجلسريدات الثلاثية .

- الرش بحامض فوسفوريك ٥٠٪ أو حامض كبريتيك ٥٠٪ ثم التسخين على درجة ٢٠٠ - ٤٠٠ م° .

لا يستخدم بخار اليود فى التعرف على المركبات المفصوله باستخدام نترات الفضة لان اليود يتفاعل مع أيون الفضة ويعطى اللوح كله لون اصفر (AgI) وبالتالى يصعب التعرف على المركبات المفصولة .

التقدير الكمى Quantitation

يمكن إجراء التقدير الكمى للمركبات المفصولة على الواح TLC بطريقتين :

١ - على اللوح Chromatoplate نفسه بحساب مساحة البقعة بجهاز البلانيمتر أو Photodensitometry .

٢ - تكشط البقع بعد إظهارها ثم تقديرها بأى من الطرق الكمية .

وتفضل الطريقة الاخيرة حيث أنه بعد التعرف على الجلسريدات يتم معرفة تركيب الاحماض الدهنية فى كل جلسريد وبعد كشط البقع ونقلها فى أنبوبة إختبار تستخلص الجلسريدات بواسطة إيثير وتعامل بأيون الكلوريد لكى يكسر الروابط بين أيون الفضة والرابطة الزوجية للجلسريدات الغير المشبعة .

وفيما يلى خطوات طريقة Hill et al (1986) لفصل وتقدير الجلسريدات :

١ - يرش لوح TLC بمحلول ١٪ ٢٫٧ - ثنائى كلوروفلورسين ثم يعرض لاشعة فوق البنفسجية UV لاظهار مناطق الجلسريدات الثلاثية .

٢ - تكشط Scrap كل منطقة وتوضع فى أنبوبة إختبار ويضاف اليها محلول ١٪ كلوريد صوديوم فى محلول من الميثانول / الماء ٩٠ : ١٠ حجم / حجم ويضاف المحلول تدريجيا

بمعدل ٥ر سم٣ تقريبا مع الرج حتى إختفاء اللون الاحمر الناتج من إرتباط أيون الفضة مع ثنائى كلوريد الفلورسين .

٣ - يضاف ٥ سم٣ من الاثير / ميثانول (٩٠/١٠ حجم/ حجم) وكذلك ١ ملليجرام BHT لكل لتر لاستخلاص الجلسريدات .

٤ - تفصل مادة الادمصاص بواسطة الطرد المركزى .

٥ - يرشح decant وتغسل مادة الادمصاص مرتين باستعمال ٤ سم٣ من المذيب المستخدم فى كل مرة .

٦ - يبخر المذيب فى جو من النتروجين .

٧ - يمكن تقدير الجلسريدات الثلاثية كميا باستعمال جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى G.L.C. باستخدام مادة قياسية داخلية Internal Standard أو بالتفاعلات اللونية باستخدام حامض كروموتروبيك chromotropic acid أو حامض الهيدروكساميك hydroxamic acid أو بواسطة جهاز الامتصاص فى منطقة الاشعة تحت الحمراء Infrared spectrophotometry .

ثانيا : الفصل باستخدام العمود الكروماتوجرافى

Column chromatography

ا - مواد الادمصاص Adsorbents

تحضر مادة الادمصاص المحتوية على أيون الفضة فى العمود الكروماتوجرافى من حامض السيليسيك فى محلول نترات الفضة كما يلى :

١ - يعلق ١٠٠ جم من حامض السيليسيك المتجانس فى ٢٠٠ سم٣ من محلول نترات الفضة ٥٠٪ (وزن / حجم) .

٢ - يسخن المخلوط على ١٠٠ مْ لمدة نصف ساعة ثم يبرد المحلول ويرشح ثم يجفف على ١٢٠مْ لمدة ١٦ ساعة ويحفظ .

وبهذه الطريقة يحتوى حامض السيليسيك على ٣ر - ٤ر جم نترات فضه / جم مادة إدمصاصية ويتم تنشيط المادة الادمصاصية على ١٩٥مْ بدلا من التسخين على ١٢٠ مْ حيث تعطى فصل أفضل كما فى حالة TLC .

obeikandl.com

٢ - المذيب Solvent

يفصل مخلوط الجلسريدات الثلاثية بواسطة العمود الكروماتوجرافى المحتوى على أيون الفضه المتحد مع حامض السيليسيك باستخدام مذيبات تتدرج فى قطبيتها ويستخدم مخلوط من المذيبات التالى :

إثير البترول / بنزين / الاثير فى الفصل .

والجدول (٢٣) يوضح تدرج القطبية لاستخلاص الجلسريدات الثلاثية المحتوية على روابط زوجية من صفر حتى ٤ روابط زوجية .

جدول(٢٣)

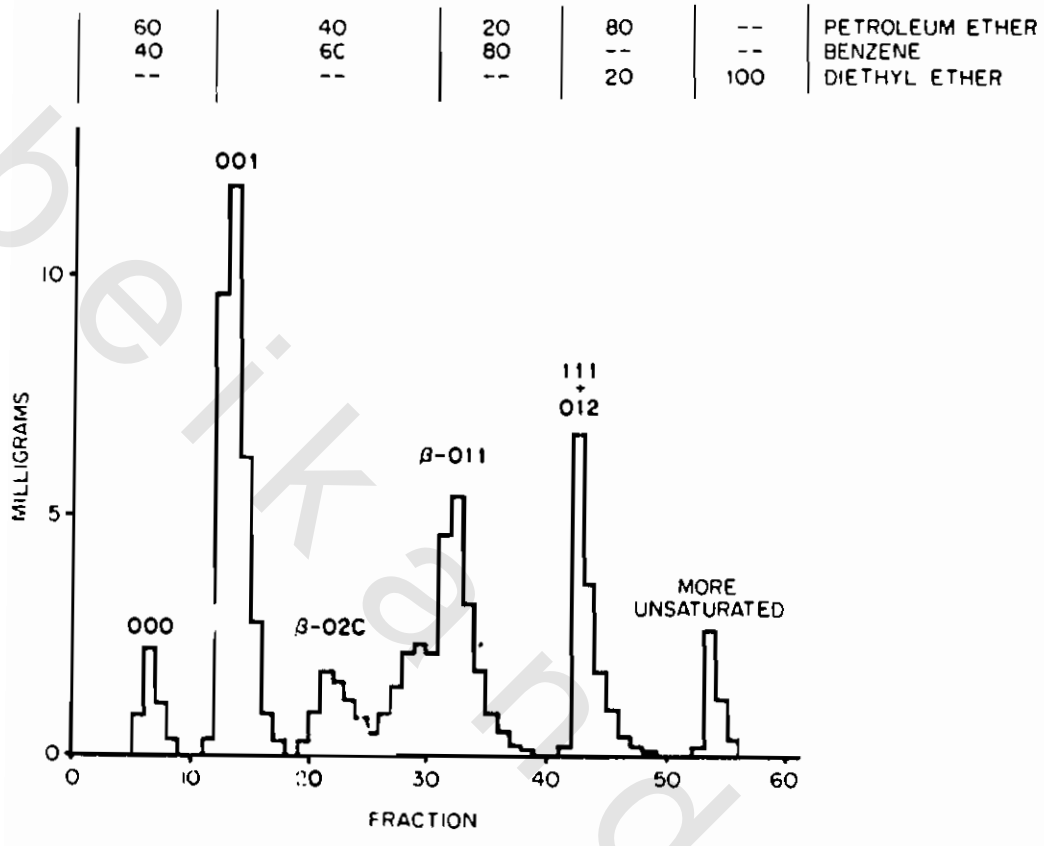
عدد الروابط الزوجية فى الجلسريدات الثلاثية	المذيب	حجم/حجم
صفر	إثير البترول/ بنزين	٤٠/٦٠
١	إثير البترول/ بنزين	٥٥/٤٥
٢	إثير البترول/ بنزين	٨٠/٢٠
٣	إثير البترول/ اثير أو بنزين	٢٠/٨٠
٤	إثير	

ودلت النتائج أنه باستخدام العمود الكروماتوجرافى لم ينجح فى فصل الجلسريدات الثلاثية المحتوية على أكثر من ٤ روابط زوجية فى الجزىء .

٣ - طريقة الفصل Separation procedure

يعبأ العمود بواسطة ١٠ - ٢٠ جم من حامض سيليسيك المحتوى على نترات فضة والمعلق فى إثير البترول ، وهذا العمود يكون كافيا لفصل ٨٠ - ١٨٠ ملليجرام من مخلوط الجلسريدات الثلاثية فى عمود أبعاده ١١ × ١٨مم ويراعى تغطية Wrapped الأعمدة بورق أسود أو ورق ألومنيوم لحماية المادة الادمصاصية من الضوء .

والشكل التالى يوضح عملية فصل الجلسريدات الثلاثية باستخدام الاعمدة فى وجود أيون الفضة وحامض السيليسيك :



التقدير الكمى Quantitation

من الطرق الواسعة الانتشار للتقدير الكمى هى تبخر المكونات Fractions فى أنابيب معلومة الوزن tared ثم يعاد وزنها بعد التبخير . ولكن هذه الطريقة شاقة tedious ومن الطرق المستعملة هو التقدير المباشر لكمية من كل مكون Fraction باستخدام جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى GLC أو باستخدام جهاز تقدير مساحة البقع Densitometery بأن توضح كمية aliquot من كل مكون على لوح TLC ثم حرقها Charred بدون اجراء عملية الفصل development .

ثالثا : التطبيقات Applications

١ – الفصل على أساس عدد الروابط الزوجية فى الوضع المضاهى

Separation by number of cis double bonds

أ – تعاقب الفصل Elution Order

يظهر الترتيب التالى تتابع فصل خليط الجلسريدات الثلاثية باستخدام مادة إدمصاصية محتوية على أيونات الفضة – وتحتوى الجلسريدات المختلطة على أحماض دهنية مشبعة ، أحادية الروابط الزوجية (١) اللينوليك (٢) ، اللينولينيك(٣).

قمة اللوح

000	001	011	002	111	212	112	
220	003	122	013	222	113	023	123
223	033	133	233	333			

أسفل اللواح

يتضح من القائمة السابقة بأن تعاقب الفصل لا يكون معتمدا فقط على عدد الروابط الزوجية فى الوضع Cis بل يعتمد أيضا على عامل آخر وهو أن قوة إرتباط أيون الفضه يكون أقوى عندما تكون الروابط الزوجية متراصة clustared فى سلسلة حامض دهنى واحد عما إذا كانت موزعة divided على عدد من سلاسل الاحماض الدهنية فمثلا سلسلة حامض اللينوليك يكون مركب أقوى إرتباط Stronger complex مع أيونات الفضة عن الارتباط مع سلسلتين لحامض الاوليك (110-200) وكذلك فان ٣ روابط زوجية فى سلسلة واحدة ١٨ : ٣ يعطى مركب أقوى إرتباط مع أيونات الفضة من ٤ روابط زوجية موزعة فى سلسلتين ١٨ : ٣ (002-003) .

وقوة الارتباط complexing power π يمكن التنبىء بها خلال قيم توقعية arbitrary values لقوة المركب لكل سلسلة حامض دهنى وهى كما يلى :

obeikandl.com

صفر = مشبعة

١ = رابطة زوجية واحدة

٢ + أ = رابطتين زوجيتين

٤ + ٤ أ = ٣ روابط زوجية

حيث أن (a) < ١

وعلى ذلك فان الجلسريد الذى تركيبه 033 به ٦ روابط زوجية يكون معقد ذو قوة 8a + 8 وهذه تكون أقوى إرتباط من 322 حيث تكون قوة الارتباط للمركب 6a + 8 على الرغم من أن هذا المركب يحتوى على ٧ روابط زوجية .

وبالرغم من أن عملية الفصل تعتمد أساسا major separation characteristics على تكوين معقد ما بين الجلسريد الغير المشبع وأيون الفضة فان هناك ٣ عوامل أخرى ثانوية minor factors تؤثر على قيمة R_f للجلسريدات الثلاثية .

١ – الاحماض الدهنية طويلة السلسلة لها قيمة R_f أعلى من الاحماض الدهنية قصيرة السلسلة . وينشأ ذلك من ضعف إدمصاصها poorer adsorption على حامض السيليسيك وتظهر هذه الصفة بوضوح فى العينات المحتوية على أحماض دهنية قصيرة السلسلة أقل من C14 وطويلة السلسلة أعلى من C20 .

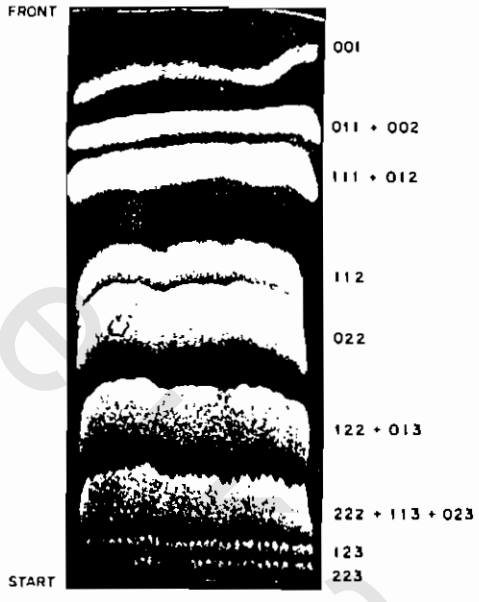
٢ – موضع الرابطة الزوجية position of a double bond على سلسلة الحامض الدهنى لها تأثير على درجة فصل الجلسريدات الثلاثية .

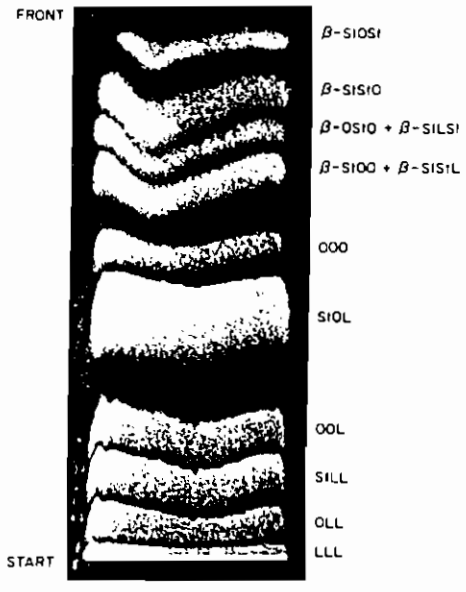
٣ – الوضع الهندسى positional isomers للجلسريدات الثلاثية (المشابهات) فمثلا B-001، B - 010 و B - 002 ، B - 020 لها أيضا تأثير على درجة الفصل حيث أن الجلسريدات المتناسقة لها قيمة R_f أعلى من غير المتناسقة Asymmetric .

الفصل باستخدام الطبقة الرقيقة TLC

يمكن فصل مخلوط من الجلسريدات الثلاثية الذى يحتوى من ٥ – ١٠ روابط زوجية على لوح واحد من TLC وفى حالة المخاليط الاكثر تعقيدا يكون من الضرورى الفصل مرتين مستخدما مذيبات مختلفة فى درجة القطبية .

obeikandl.com





والشكل (أ) يوضح فصل TG من 001 الى 222 والشكل (ب) يوضح تتابع فصل الجلسريدات من 001 الى 222 .

ويلاحظ أن قوة الفصل Resolution تقل مع زيادة عدم التشبع فى الجلسريدات الثلاثية حيث تفصل الجلسريدات الثلاثية من 000 الى 222 كشرائط منفصله Single bands ولكن عندما يحتوى الليبيد على C18:3 فان الجلسريدات الثلاثية من 222 إلى 333 يكون فصلها جزئى Partially resolved وأن الجلسريدات الثلاثية المفصوله بالطريقه التحضيريه تعطى مكونات Fractions عباره عن مخاليط ثلاثيه ورباعية من أقسام الجلسريدات الثلاثيه ternary or quaternary mixtures وعلى ذلك فان إستخدام مادة إدمصاصية تحتوى على أيون الفضة فى TLC يكون مفيدا فى فصل الدهون المشبعة مثل السمن الصناعى .

استخدامات العمود الكروماتوجرافى Column chromatography

يفصل العمود الكروماتوجرافى المحتوى على أيونات الفضة الجلسريدات الى ٦ أقسام فقط وهى الجلسريدات الاكثر فى عدم التشبع 012 + 111, 011, 002, 001, 000 والمحاولات التى بذلت حتى الآن لفصل مخاليط TG عالية عدم التشبع لم تنجح باستخدام العمود الكروماتوجرافى .

أولا : فصل المشابهات Isomer Separation

يمكن فصل ٤ أنواع من مشابهات الجلسريدات الثلاثية باستخدام الطرق الكروماتوجرافية المحتوية على أيون الفضة وهى :

أ – فصل الجلسريدات التى تحتوى على روابط زوجية فى أى موضع فى داخل جزىء الجلسريد الثلاثى Isomeric positioning of double bonds within the triglyceride molecule

مثال : يحدث فصل ممتاز لأزواج الجلسريدات التالية :

020 - 011, 111 - 012 , 022 - 013

ب – فصل المتشابهات التى تحتوى على روابط زوجية فى مواضع مختلفة داخل سلسلة حامض دهنى واحد Isomeric positioning of double bonds with-in a single fatty acid chain

مثال : يمكن فصل المتشابهات أوليك (9c) 18:1 عن البتروسيلينيك (6c) 18:1 بتكرار الفصل ٣ مرات عند درجة حرارة – ٢٢مْ .

يمكن فى بعض الاحيان فصل بعض المتشابهات التى تختلف فى :

موضع الرابطة الزوجية وطول سلسلة الحامض الدهنى أى جميع ما ذكر فى أ ، ب مثال ذلك يمكن فصل الجلسدريدات : 16:1 (ω9) - 18:1 (ω11) - 18:1 (ω9) - 20:1(wω11)

ثانيا : فصل متشابهات الجلسريدات طبقا للتوزيع الفراغى للروابط الزوجية Geometric isomers of double bonds

تكون الجلسريدات الثلاثية التى تحتوى على روابط زوجية فى وضع مخالف trans مع الكترونات π أضعف من مثيلتها التى تحتوى على روابط زوجيه فى وضع مضاهى Cis وعلى

obeikandl.com

ذلك يمكن فصل المتشابهات المضاهية والمخالفة بواسطة الادمصاص الكروماتوجرافى المحتوى على أيون الفضة فمثلا يمكن فصل متشابهات الجلسريدات الثلاثية المحتوية على أوليك (18:1,9c) وإلياديل (18:1, 9t) عن طريق هذه الطريقة الكروماتوجرافية وتعتبر طرق فصل المتشابهات المضاهية والمخالفة ذات أهمية كبيرة عند تحليل الدهون المهدرجة .

ثالثا : فصل متشابهات الاحماض الدهنية المؤستله بالجلسرول

Isomeric esterification of fatty acids to glycerol

يمكن بسهولة فصل أزواج الجلسريدات الثلاثية التالية :B:020 - 002 , B : 101 - 011 B : 010 - 001 , بواسطة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة المحتوية على أيون الفضة – فالمتشابهات المتناسقة symmetrical isomers لها قيمة R_f أعلى فى كل نوع من الجلسريدات الثلاثية المذكورة .

يعتبر فصل المتشابهات بواسطة الادمصاص الكروماتوجرافى المحتوى على أيون الفضة ذات قيمة كبيرة عندما تحتوى الجلسريدات الثلاثية على عدد قليل نسبيا من الروابط الزوجية Relatively few double bonds والجدير بالذكر أن المتشابهات التى تختلف فى طول سلاسل الاحماض الدهنية (Sn - PPP وSn - MPSt) والمتشابهات الضوئية Sn وSn-POL) (OPL - للجلسريدات الثلاثية لا يمكن فصلها بهذه الطرق الكروماتوجرافية .

مشتقات الجلسريدات الثنائية : Derived diglycerides

يمكن فصل الجلسريدات الثنائية الناتجة من الازالة الاختيارية Selective deacylation للاحماض الدهنية الناتجة من الجلسريدات الثلاثية أو من إزالة مجموعة الفوسفات Dephos-phorylation من الفوسفوليبيدات بواسطة الادمصاص الكروماتوجرافى المحتوى على أيون الفضة ، وعلى الرغم من أنه يمكن إستخدام الجلسريدات الثنائية الحره لاجراء عملية الفصل الا أنه يفضل إجراء عملية أستلة للموضع الخالى من الاحماض الدهنية لمنع تكوين المتشابهات isomerization التى تنتج من إنتقال أسيل الحامض الدهنى ، ويمكن بسهولة الحصول على فصل عالى لمتشابهات الجلسريدات الثنائية الأصلية وهى : Sn - 2,3 و Sn - 1,3 نظرا لأن هذه المتشابهات تدمص بدرجات مختلفة adsorbed differently باستخدام حامض السيليسيك .

وفيما يلى تعاقب فصل خلات الجلسريدات الثنائية :

أعلى اللوح

00Ac, 01Ac, 11Ac, 02Ac, 12Ac, 22Ac,
03Ac, 04Ac, 14Ac, 05Ac, 06Ac, 24Ac,
15Ac { 55Ac, 56Ac, 66Ac

أسفل اللوح

وأنه من المدهش حقا أننا نجد 06 Ac له قيمة R_f أعلى من 24 Ac و 15 Ac نظرا لان ارتباط أيون الفضه مع الكترونات π للروابط الزوجية يكون أقوى عندما توجد الروابط الزوجية الثنائية أو الثلاثية مجتمعه فى سلسلة واحدة لحامض دهنى عما أن تكون هذه الروابط غير المشبعة موزعه على سلاسل الأحماض الدهنية .

obeikandl.com