

О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова

**ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ РАЗДЕЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА**

ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет", Россия, Воронеж

Показана возможность теоретического подхода к выбору оптимальных условий разделения некоторых аминокислот в тонком слое сорбента, т.е. возможность прогнозирования значения величин  $R_f$  по уравнениям линейных зависимостей при известном значении полярности элюента. При совместном определении для достижения оптимальных величин  $R_f$  и наилучшего разделения следует работать в интервале от 5,13 до 5,69 единиц полярности системы. На основе установленных закономерностей, приведенных в работе, могут быть разработаны различные методики, которые в зависимости от целей анализа и предполагаемого состава аминокислот найдут применение в контроле качества как моно-, так и комбинированных аминокислотных препаратов, витаминных комплексов четвертого поколения, а также для разделения и идентификации свободных аминокислот, присутствующих в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах.

**Ключевые слова:** аргинин; валин; глицин; глутаминовая кислота; лейцин; метионин; пролин; фенилаланин; тонкослойная хроматография.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) предложена в 1938 г. Измайловым Н. А. и Шрайбером М. С. и продолжает оставаться одним из наиболее часто используемых в фармацевтическом анализе методов, постоянно развиваясь и совершенствуясь.

Аминокислоты (АК) являются весьма сложным объектом для химического анализа. Несмотря на широкое внедрение методов ГЖХ и ВЭЖХ, анализ АК с помощью ТСХ в настоящее время применяется также довольно широко [1 – 12]. Различные варианты ТСХ используются для установления качественного состава АК в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и других объектах [5 – 12]. В ряде случаев идентифицировать все зоны на хроматограммах методом ТСХ затруднительно, т.к. зоны некоторых АК имеют близкие значения  $R_f$ . Для ТСХ всего спектра известных АК до сих пор не подобраны универсальные условия разделения (сорбент и система растворителей). Это связано с тем, что сам объект — смесь АК — условно разделяется на 2 группы: с низкими (до 0,3) и высокими (0,3 – 1,0) значениями коэффициента подвижности  $R_f$ . АК с промежуточными значениями  $R_f$  не поддаются интерпретации известными способами из-за перегруженности этой области АК и неэффективности систем растворителей для их разделения. Основной задачей при разработке новых методик анализа является выбор систем растворителей, обеспечивающих разделение сложных смесей исследуемых АК.

В связи с вышесказанным целью работы являлось обоснование теоретического подхода к выбору оптимальных параметров разделения АК в тонком слое сорбента.

*Экспериментальная часть*

В качестве объектов исследования были выбраны АК, характеризующиеся различными кислотно-основными свойствами: глицин, валин, лейцин (алифатиче-

ские нейтральные АК), метионин (АК, содержащая серу), пролин (аминокислота), аргинин (основная АК), глутаминовая кислота (кислая АК) и фенилаланин (ароматическая АК).

В работе использовали 0,1 % водные растворы АК (ЗАО Вектон, Санкт-Петербург, Россия). Исследуемые растворы АК объемом 1 мкл наносили на стартовую линию хроматографических пластин марок "Sorbfil" ПТСХ-АФ-А, ПТСХ-АФ-В и ПТСХ-П-УФ высокоэффективные размером 10 × 10 см (тип сорбента — силикагель СТХ-1А, СТХ-1ВЭ; зернение 5 – 17 мкм, 8 – 12 мкм; толщина слоя — 90 – 120, 80 – 100 мкм соответственно; связующее — силиказоль). В работе использовали растворители марки х.ч. (ЗАО "Вектон", Санкт-Петербург, Россия).

Выбор обнаруживающего реагента осуществляли с учетом анализа литературных источников, согласно которым хроматографические пластинки обрабатывают 0,2 % раствором нингидрина в ацетоне или 1 % спиртовым раствором нингидина, который образует с АК аммонийную соль енольной формы дикетогидринденкетогидринамина, имеющую стойкую сине-фиоле-

Таблица 1

**Пределы обнаружения АК**

№ п/п	АК	Предел обнаружения, г · 10 <sup>-8</sup>	
		0,2 % раствор нингидрина в ацетоне	1 % спиртовый раствор нингидрина
1	Аргинин	10	1
2	Глицин	20	1
3	Глутаминовая кислота	1	1
4	Валин	2	5
5	Лейцин	2	3
6	Метионин	2	3
7	Пролин	20	10
8	Фенилаланин	2	3

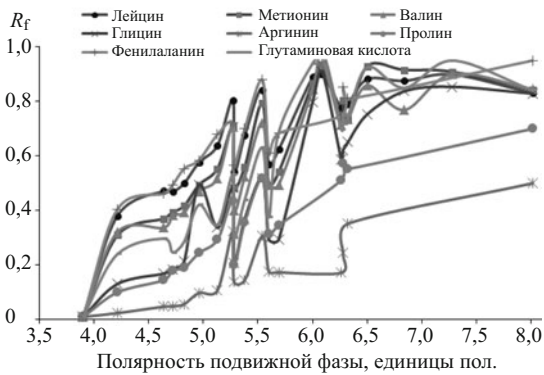


Рис. 1. Вид зависимости величины  $R_f$  АК от полярности элюента.

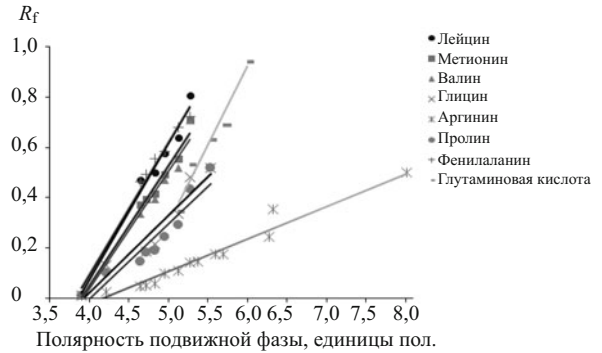


Рис. 2. Линейные зависимости величины  $R_f$  АК от значения полярности элюента.

товую окраску [2] при нагревании в сушильном шкафу при температуре 80 – 100 °С в течение 2 – 3 мин. Зоны АК на хроматограммах обнаруживали способом опрыскивания хроматограмм раствором детектирующего реагента с помощью пульверизатора (spraying).

### Результаты и их обсуждение

Результаты сравнительной характеристики исследуемых детектирующих реагентов приведены в табл. 1, данные которой свидетельствуют о том, что наилучшим реактивом для обработки пластин является 1 % спиртовой раствор нингидрина. Кроме того, пластины не изменяют цвет при кратковременном на-

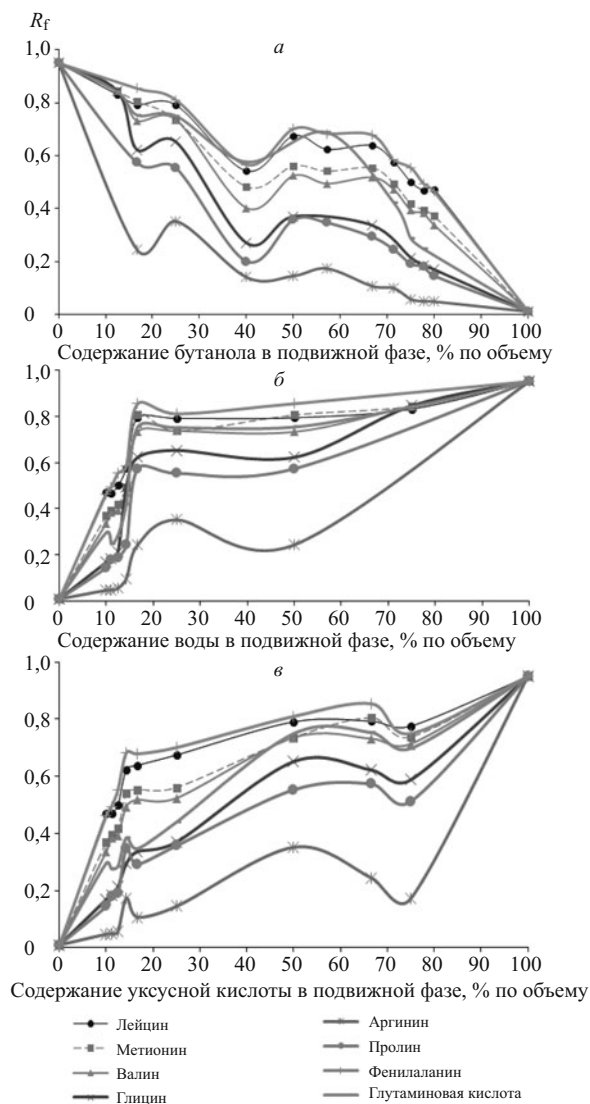
гревании, зоны АК проявляются в виде розовых, оранжевых, сине-фиолетовых и малиновых пятен на белом фоне.

Для обоснования возможности использования теоретического подхода к выбору оптимальных условий хроматографического разделения АК необходимо было изучить влияние полярности элюентов на хроматографическую подвижность АК в тонком слое. В эксперименте изучено более 20 типов элюирующих систем с различными значениями полярности [13]. Расчет полярности элюента производили по известной формуле [13, 14], используя значения полярностей компонентов по Л. Снайдеру. Результаты, представляющие наибольшее значение для достижения поставленной цели, представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2

Подвижные фазы, использованные для разделения АК в тонком слое сорбента

№	Элюент	$R_f$								P'
		Glu	Phe	Arg	Val	Gly	Met	Leu	Pro	
1	<i>n</i> -бутанол	0,012	0,012	0,010	0,011	0,010	0,012	0,012	0,010	3,90
2	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (8:1:1)	0,290	0,463	0,048	0,337	0,169	0,371	0,472	0,145	4,64
3	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (7:1:1)	0,247	0,494	0,049	0,383	0,185	0,395	0,469	0,181	4,72
4	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (6:1:1)	0,286	0,554	0,057	0,393	0,214	0,417	0,500	0,190	4,83
5	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (5:1:1)	0,420	0,585	0,098	0,471	0,494	0,494	0,576	0,244	4,96
6	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:1)	0,350	0,679	0,107	0,518	0,337	0,554	0,639	0,293	5,13
7	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (3:1:1)	0,440	0,701	0,145	0,524	0,370	0,561	0,675	0,357	5,38
8	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5)	0,300	0,565	0,140	0,402	0,207	0,482	0,542	0,200	5,28
9	этилацетат — муравьиная кислота — вода (4:1:1)	0,630	0,701	0,145	0,524	0,370	0,561	0,675	0,357	5,54
10	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:2)	0,680	0,683	0,173	0,494	0,294	0,541	0,624	0,346	5,69
11	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (1:4:1)	0,753	0,854	0,244	0,732	0,622	0,805	0,793	0,573	6,28
12	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (1:2:1)	0,756	0,810	0,352	0,736	0,652	0,736	0,791	0,553	6,33
13	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (1:6:1)	0,698	0,750	0,172	0,714	0,588	0,738	0,776	0,512	6,26
14	<i>n</i> -бутанол — уксусная кислота — вода (1:1:6)	0,841	0,905	0,346	0,845	0,829	0,843	0,831	0,632	8,01



**Рис. 3.** Зависимость величины  $R_f$  АК от содержания *n*-бутанола (а), воды (б), ледяной уксусной кислоты (в) в подвижной фазе (неподвижная фаза — силикагель).

Рассчитав величину полярности подвижных фаз ( $P'$ ), получили зависимость значения относительной подвижности АК от полярности элюента в диапазоне от 3,90 до 8,01 единиц (рис. 1). Данные рис. 1 показывают, что с увеличением полярности подвижной фазы исследуемые АК меньше удерживаются сорбентом, перемещаясь по пластине с фронтом элюента, что сопровождается уменьшением значений коэффициентов распределения ( $K$ ) и ростом величины  $R_f$ . Этот факт может объясняться тем, что сами АК за счет присутствия карбоксильной, amino- и иминогрупп являются полярными соединениями.

Как видно из рис. 1, вид кривых, изучаемых АК, за исключением пролина и аргинина, сходен между собой. При достижении величины  $P' = 6,75$  единиц и более значение параметра  $R_f$  определяемых веществ перестает зависеть от полярности элюента, и компоненты не сорбируются неподвижной фазой ( $R_f \rightarrow 1$ ). Особенные трудности могут возникнуть при отделении лейцина от фенилаланина и метионина от валина.



**Рис. 4.** Вид хроматограммы смеси стандартных образцов АК при хроматографировании в системе *n*-бутанол — ледяная уксусная кислота — вода (4:1:1), обнаруживающий реагент — 1,0 % раствор нингидрина в спирте: 1 — аргинин; 2 — пролин; 3 — глицин; 4 — глутаминовая кислота; 5 — валин; 6 — метионин; 7 — лейцин; 8 — фенилаланин.

Следовательно, для достижения наилучшего разделения необходимо работать при определенных полярностях систем.

При детальном изучении влияния полярности системы на величину  $R_f$  были выбраны интервалы значений  $P'$  элюента, при которых данные зависимости становятся линейными (табл. 3, рис. 2). Проведена статистическая оценка параметров линейных зависимостей путем расчета величины коэффициента корреляции ( $R^2$ ). Уравнения приведены в табл. 3.

С помощью предложенных зависимостей можно подбирать различные системы для определения АК в тонком слое сорбента таким образом, чтобы величина  $R_f$  укладывалась в оптимальные значения [14]. Интервалы полярностей элюента представлены в табл. 3.

При варьировании содержанием *n*-бутанола, уксусной кислоты и воды в трехкомпонентной подвижной фазе (табл. 2) были получены кривые зависимости величины  $R_f$  АК от процентного содержания каждого компонента в элюенте (рис. 3).

Полученные зависимости позволили установить такие соотношения *n*-бутанола, уксусной кислоты и воды в подвижной фазе, которые необходимы для достижения оптимальной величины  $R_f$  каждой АК. Результаты представлены в табл. 4.

Однако при совместном определении большого количества веществ определяющее значение в хроматографии имеет значение параметра селективности сорбции ( $L$ ) (табл. 5). Установлено, что наилучшее разделение хроматографических зон АК достигается в системах (табл. 2) № 6 – 10 (интервал полярностей 5,13 – 5,69). В то же время, с точки зрения эффективности хроматографического процесса, характеризующейся величинами высоты, эквивалентной теоретической тарелке ( $H$ , мм) и числом теоретических тарелок ( $N$ ), наилучшими для разделяемых веществ являются системы № 6 и 9 (табл. 6). Вид полученных в системе № 6 хроматограмм представлен на рис. 4.

Примеры теоретического подхода к решению задачи разделения сложных смесей давно описаны в лите-

## Характеристики линейных зависимостей значения подвижности АК от полярности элюента в тонком слое сорбента

№ п/п	АК	Параметры линейности			
		уравнение прямой $y = ax + b$	диапазон линейной зависимости, единицы полярности	коэффициент корреляции ( $R^2$ )	диапазон полярности элюента для получения оптимальных величин $R_f$
1	Аргинин	$y = 0,1293x - 0,5408$	3,90 – 8,01	0,9545	6,50 – 8,82
2	Глицин	$y = 0,3074x - 1,2072$	3,90 – 5,54	0,9243	4,90 – 5,88
3	Глутаминовая кислота	$y = 0,6191x - 2,7941$	5,13 – 6,00	0,9615	5,00 – 5,48
4	Валин	$y = 0,4669x - 1,8293$	3,90 – 5,27	0,9646	4,56 – 5,20
5	Лейцин	$y = 0,5433x - 2,1007$	3,90 – 5,27	0,9789	4,42 – 4,97
6	Метионин	$y = 0,477x - 1,858$	3,90 – 5,27	0,9817	4,52 – 5,15
7	Пролин	$y = 0,2982x - 1,1963$	3,90 – 5,54	0,9056	5,02 – 6,02
8	Фенилаланин	$y = 0,5243x - 2,0039$	3,90 – 5,27	0,9851	4,39 – 4,97

ратуре. Для конструирования подвижных фаз с целью разделения, в частности, смесей АК методом ТСХ применяются следующие подходы: литературные источники; стандартные подвижные фазы; метод “элюирования пятна”; схема, предложенная фирмой “Camag” (Швейцария); модель “ПРИЗМА”; вариокамеры [15, 16].

В практической работе при использовании подвижных фаз, полученных из литературных источников, для разделения определенной группы соединений необходимо учитывать тип сорбента; марку сорбента; толщину слоя сорбента; условия промывания и активирования пластинок перед работой; тип камеры, в которой осуществлялось элюирование; насыщение камеры; время насыщения камеры, а в некоторых случаях и пластинки; температуру и относительную влажность воздуха лабораторного помещения; наличие и содержание стабилизаторов в растворителях. Только при учете всех перечисленных выше факторов можно воспроизвести разделение с приемлемым разрешением и селективностью. Наиболее широко используется схема, предложенная фирмой “Camag”, и модель “ПРИЗМА”.

Схема оптимального выбора подвижной фазы, предложенная фирмой “Camag”, включает 4 ступени: исследуемая смесь на первом этапе подвергается раз-

делению в 12 растворителях, имеющих различную силу. На втором этапе производится увеличение или уменьшение силы растворителя, в случае использования которого наблюдалось разделение компонентов смеси с помощью добавления воды или *n*-гексана. На третьем этапе, в случае необходимости добавляется модификатор кислой или основной природы в трехкомпонентную систему. На четвертом этапе производится выбор оптимальной по селективности элюирующей системы посредством вариации компонентов подвижной фазы, полученной на третьем этапе [15].

Модель “Призма” была разработана Ш. Нейреди для подбора и оптимизации элюирующих систем в прямофазовой и обращенно-фазовой планарной хроматографии. Эта модель представляет собой трехмерный вариант треугольника Л. Снайдера, который является основанием призмы. Модель дает принципиальную возможность, комбинируя составом 2 – 5-компонентного элюента, осуществить разделение исследуемых смесей с высоким разрешением и селективностью. В практической работе первоначально испытывается смесь растворителей, взятая в соотношении (1:1:1), и, если величины  $R_f$  компонентов исследуемой смеси лежат в диапазоне выше 0,7, то к четырехкомпонентному элюенту добавляют дополнительно *n*-гексан, а в случае  $R_f < 0,2$  к элюенту добавляется вода. Затем проверяют селективность в точках 8:1:1; 1:8:1 и 1:1:8. Если полученные результаты по разделению смеси будут удовлетворительными, проверяют селективность разделения в точках 7:2:1; 2:7:1 и 1:2:7, а также в их окрестностях, добиваясь наилучшей селективности и эффективности разделения. После нахождения оптимального соотношения компонентов элюента можно провести дополнительную оптимизацию (по селективности и разрешению), увеличивая или уменьшая силу элюента и/или количество модификатора [15].

К недостаткам таких подходов можно отнести следующее: отсутствие учета газовой фазы в хроматографической камере; трудности при разделении высокополярных соединений, к которым относятся АК; расхождение между расчетными данными и результатами, полученными на практике [15], а также длительность и трудоемкость.

Таблица 4

Оптимальное соотношение *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в трехкомпонентной подвижной фазе при разделении АК методом ТСХ

№ п/п	АК	Содержание компонентов в элюенте, % (по объему)		
		<i>n</i> -бутанол	ледяная уксусная кислота	вода
1	Аргинин	10 – 25	25 – 75	25 – 75
2	Глицин	40 – 70	15 – 75	12 – 17
3	Глутаминовая кислота	60 – 80	10 – 25	10 – 17
4	Валин	40 – 80	7 – 25	7 – 15
5	Лейцин	70 – 90	5 – 15	5 – 15
6	Метионин	40 – 80	7 – 25	7 – 15
7	Пролин	17 – 67	15 – 75	15 – 60
8	Фенилаланин	70 – 90	5 – 15	5 – 15



**Параметры хроматографического разделения смеси стандартных образцов исследуемых АК**

№ п/п	АК	Эффективность разделения в системе									
		№ 6		№ 7		№ 8		№ 9		№ 10	
		К	L	К	L	К	L	К	L	К	L
1	Фенилаланин	0,47	–	0,43	–	0,77	–	0,43	–	0,46	–
2	Лейцин	0,56	1,19	0,48	1,12	0,85	1,10	0,48	1,12	0,60	1,30
3	Метионин	0,81	1,45	0,78	1,63	1,07	1,26	0,78	1,63	0,85	1,42
4	Валин	0,93	1,15	0,91	1,17	1,49	1,39	0,91	1,17	1,02	1,20
5	Глутаминовая кислота	1,86	2,00	1,27	1,40	2,33	1,56	0,59	1,32	0,47	1,02
6	Глицин	1,97	1,06	1,70	1,34	3,83	1,64	1,70	1,87	2,40	1,27
7	Пролин	2,41	1,22	1,80	1,06	4,00	1,04	1,80	1,06	1,89	1,85
8	Аргинин	8,35	3,46	5,90	3,28	6,14	1,54	5,90	3,28	4,78	1,99

Таблица 6

**Параметры эффективности хроматографирования исследуемых АК**

№ п/п	АК	Эффективность разделения в системе									
		№ 6		№ 7		№ 8		№ 9		№ 10	
		H	N	H	N	H	N	H	N	H	N
1	Аргинин	0,44	179,55	0,75	104,00	1,33	60,90	0,35	228,57	1,14	66,67
2	Глицин	0,89	87,64	1,20	63,33	1,47	52,38	1,14	68,42	0,64	125,00
3	Глутаминовая кислота	0,36	186,11	0,26	291,83	1,04	72,00	0,17	464,71	0,16	468,75
4	Валин	0,37	210,81	0,21	366,67	0,48	160,42	0,15	520,00	0,21	380,95
5	Лейцин	0,17	458,82	0,30	250,00	0,20	390,00	0,13	600,00	0,30	266,67
6	Метионин	0,35	222,86	0,54	142,59	0,40	195,00	0,38	205,26	0,20	400,00
7	Пролин	0,30	256,67	0,53	149,06	0,94	85,11	0,58	134,48	0,89	85,39
8	Фенилаланин	0,65	116,92	0,41	200,00	0,52	153,85	0,34	229,41	0,64	120,31

Предложенный нами подход к выбору оптимальных условий хроматографического разделения АК в тонком слое сорбента дает воспроизводимые результаты с минимальными затратами.

В результате по совокупности экспериментально полученных и теоретически рассчитанных данных нами выбраны оптимальные условия для разделения изучаемых АК в тонком слое сорбента: хроматографические пластинки марки “Sorbfil” ПТСХ-АФ-А или ПТСХ-АФ-В размером 10 × 10 см; элюент *n*-бутанол — ледяная уксусная кислота — вода (4:1:1) или этилацетат — муравьиная кислота — вода (4:1:1); высота фронта подвижной фазы 9 см; детектирующий реагент — 1 % спиртовой раствор нингидрина; оптимальный объем пробы — 1 мкл водного раствора с содержанием АК 1 мг/мл; время насыщения камеры парами элюента — 40 мин; время элюирования — 55 мин; время выдерживания пластинки в термостате после проявления при  $t^{\circ} = 80 - 100^{\circ}\text{C}$  — 3 – 5 мин.

Таким образом, показана возможность теоретического подхода к выбору оптимальных условий хроматографического разделения АК в тонком слое сорбента, т.е. возможность прогнозирования значения величин  $R_f$  исследуемых АК по уравнениям линейных зависимостей при известном значении полярности элюента. При совместном определении для достижения оптимальных величин  $R_f$  и наилучшего разделе-

ния следует работать в интервале от 5,13 до 5,69 ед. полярности системы. На основе установленных закономерностей, приведенных в работе, могут быть разработаны различные методики, которые в зависимости от целей анализа и предполагаемого состава АК найдут применение в контроле качества как моно-, так и комбинированных аминокислотных препаратов, витаминных комплексов четвертого поколения, а также для разделения и идентификации свободных АК в сумме, присутствующей в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Соболева, В. Н. Чушенко, А. А. Коломиец, *Электронный журнал “Провизор”*, № 17 (2010), <http://www.provisor.com.ua/>
2. А. В. Симонян, А. А. Саламатов, Ю. С. Покровская, А. А. Аванесян, *Использование нингидриновой реакции для количественного определения  $\alpha$ -аминокислот в различных объектах. Методические рекомендации*, Волгоград (2007).
3. В. Н. Майстренко, Р. Р. Ильясова, Ф. Х. Кудашева и др., *Вестник Башкир. универ.*, 13(2), 265 – 269 (2008).
4. Абу Захер Кхалед, Н. С. Журавлев, *Электронный журнал “Провизор”*, № 21 (2001), <http://www.provisor.com.ua/>
5. И. И. Малахова, В. Д. Красиков, Б. В. Тяглов, Е. В. Дегтерев и др., патент РФ № 2095808 от 10.11.1997 г. (1997).
6. Б. В. Тяглов, Е. В. Дегтерев, И. И. Малахова и др., Патент РФ № 2078342 от 27.04.1997 г. (1997).

7. В. Г. Голованов, А. А. Петровский, Н. В. Кельник и др., Патент SU № 1642373 от 03.05.89 г. *Способ определения аминокислот, модифицированных высшими жирными кислотами* (1991).
8. О. В. Тринеева, *Разработка и регистрация лек. средств*, 2(11), 96 – 114 (2015).
9. О. В. Тринеева, Е. Ф. Сафонова, А. В. Синкевич, А. И. Сливкин, *Хим.-фарм. журн.*, 49(5), 37 – 41 (2015); *Pharm. Chem. J.*, 49(5), 323 – 328 (2015).
10. О. В. Тринеева, А. В. Синкевич, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова, *Химия растительного сырья*, № 2, DOI: 10.14258/jscrpm.201501292 (2015).
11. О. В. Тринеева, А. В. Синкевич, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова, *Сорбционные и хроматограф. процессы*, 14(3), 530 – 536 (2014).
12. О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, А. В. Синкевич, *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции*, Вып. 69, Пятигорск (2014), сс. 248 – 250.
13. О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др., *Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии*, Водолей, Воронеж (2004).
14. Ф. Гейсс, *Основы тонкослойной хроматографии*, Мир, Москва (1999).
15. В. Д. Красиков, *Основы планарной хроматографии*, Химиздат, Санкт-Петербург (2005), сс. 45 – 52.
16. О. Мелькина, И. Манухов, С. Антонова и др., *Аналитика*, 13(6), 28 – 34 (20013).

Поступила 30.09.15

## SELECTING OPTIMUM PARAMETERS FOR AMINO ACID SEPARATION BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

O. V. Trineeva, A. I. Slivkin, and E. F. Safonova

Voronezh State University, Voronezh, 394036 Russia

The possible theoretical approach to selecting optimum conditions for the separation of some amino acids by thin-layer chromatography (TLC) is shown, which is based on the prediction of  $R_f$  values using their linear relations for the known values of eluent polarity. For the joint determination of amino acids, to achieve optimum  $R_f$  values and the best partition are achieved in the system polarity range from 5.13 to 5.69. Based on the established relations, various TLC techniques can be developed which, depending on the purpose of analysis and particular amino acid composition, will find application for the quality control of both mono and combined amino acid preparations and vitamin complexes of the fourth generation, as well as for the separation and identification of free amino acids present in raw plant materials and phytopreparations.

**Keywords:** arginine; valine; glycine; glutamic acid; leucine; methionine; proline; phenylalanine; thin-layer chromatography.