

АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИИ *Ocimum gratissimum* МЕТОДАМИ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОСКОПИИ И ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ

© 2021 г. Р. Селвараджу*, П. Сакунтала**, К.А. Джалили***

*Отдел физики ФИИТ Университета Аннамалай, Чидамбарам, Тамил Наду, Индия

E-mail: drselvaraju@featau@gmail.com

**Кафедра физики Женского колледжа Раджа Бахадур Венкат Рама Редди, Нараянагуда, Хайдарабад, Штат Теннесси, Индия

E-mail: sakuntalap71@yahoo.com

***Кафедра физики Низам-колледжа Османского Университета, Хайдарабад, Штат Теннесси, Индия

E-mail: kaleemjaleeli@gmail.com

Поступила в редакцию 27.04.2020 г.

После доработки 23.06.2020 г.

Принята к публикации 27.01.2021 г.

Проведено определение химических соединений, присутствующих в листьях, стеблях и семенах растения *Ocimum gratissimum*. С помощью газовой хроматографии-масс-спектрологии показано присутствие эвгенола, флавоноидов, кариофиллена, олеиновой кислоты, фитола, октадекановой кислоты, клогексен-1-метанол-4-[1-метилэтил]ацетата, артемизинина, 3,5-бис[1,1-диметилэтил]-фенол и метил-альфа-иона в качестве основных соединений. Уже было доказано, что эти соединения обладают антиоксидантным, антимикотическим, противовирусным, противопаразитарным, отпугивающим насекомых, противовоспалительным, анестезирующим, антиканцерогенным, антимикробным, противоопухолевым, обезболивающим, антибактериальным, фунгицидным, цитотоксическим и противогрибковым действием. С использованием метода ИК-Фурье-спектрологии идентифицированы такие функциональные группы, как C=O, O–H, C–N и C=C.

Ключевые слова: биологическая активность, *Ocimum gratissimum*, газовая хроматография-масс-спектрология, ИК-Фурье-спектрология, функциональные группы.

DOI: 10.31857/S0006302921030078

Индийская традиция оказывает большое влияние на выбор лекарственных растений в качестве лекарственных средств. Биохимические соединения, присутствующие в растениях, эффективны, не дают побочных эффектов и имеют низкую стоимость [1]. Лекарственные растения используются в повседневной жизни для приготовления ценных лекарств в развивающихся странах, таких как Индия, Бразилия, Китай и т. д. Эти растения являются источниками фитохимических веществ, ценных элементов, витаминов и минералов, которые могут быть использованы для приготовления лекарств в фармацевтической промышленности [2–4].

Растение туласи (базилик эвгенольный (лат. *Ocimum gratissimum*)) считается объектом поклонения божеству и известно как «царица растений» и «материнское лекарство природы» из-за

его потенциальных лечебных свойств [5]. Туласи означает несравненный или неподобный [6]. Это растение известно как тулси (Tulsi) на хинди, гуджарати и бенгали и Туласа (Tulasa) на маратхи. На тамильском — это туласи (Thulasi, Tulasi) на телугу и Триттаву (Trittavu) на малаялам. По-английски он называется базилик священный. Растения вида *Ocimum* принадлежат к семейству *Lamiaceae*. Этот вид имеет множество разновидностей и выращивается во многих частях света. В аюрведической медицине используются его различные фрагменты — листья, стебли и семена [7]. Каждая разновидность имеет свои лечебные особенности [8]. Базилик также относится к категориям домашних и диких растений [9]. Растение используется при лечении многих заболеваний, таких как опухоли, рак, диабет, инсульт и т. д. [10–12].

Газовая хроматография, объединенная с масс-спектрометрией (ГХ-МС), представляет собой чрезвычайно удачный синергетический союз, поскольку соединения, которые можно анализиро-

Сокращение: ГХ-МС — газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией.

вать с помощью газовой хроматографии (низкомолекулярные, средней или низкой полярности, в концентрации частица на миллион/миллиард частей), также совместимы с требованиями масс-спектрометрии. Газовая хроматография может разделять летучие и полуметучие соединения с большим разрешением, но не может их идентифицировать. Масс-спектрометрия может идентифицировать и определять точное количество соединений, присутствующих в образцах, по их структурной информации.

Инфракрасный спектрофотометр с преобразованием Фурье (ИК-Фурье-спектрометр) — наиболее мощный инструмент для определения типов химических связей (функциональных групп), присутствующих в соединениях. Длина волны поглощенного света является характеристикой химической связи, как видно из аннотированного спектра. Интерпретируя инфракрасный спектр поглощения, можно определить химические связи в молекуле [13]. В последние годы ИК-Фурье-спектроскопия становится общепринятым методом из-за простоты подготовки проб, быстроты определения, требует небольшого размера образцов и не требует использования растворителей, что является более экономичным. Многочисленные исследования показали, что ИК-Фурье-спектроскопия может использоваться для анализа биологически активных соединений. К ним относятся исследования в области пищевых технологий, фармацевтики и медицины [14]. Наша работа была направлена на идентификацию возможных фитохимических соединений вместе с их функциональными группами, присутствующими в спиртовом экстракте листьев, стеблей и семян растения *Ocimum gratissimum*, с использованием методов ГХ-МС и ИК-Фурье-спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и подготовка растительного материала Листья, стебли и семена *Ocimum gratissimum* (всего три образца) были собраны в Центральном институте лекарственных и ароматических растений (Хайдрабад, штат Телангана, Индия). Все собранные образцы растений были без какой-либо инфекции (листья, стебли и семена) и проверялись в соответствии со стандартной процедурой. Собранный растительный материал сначала промывали простой водой, затем дистиллированной водой, после чего сушили на воздухе при комнатной температуре в течение одной недели. Растительный материал разрезали на небольшие кусочки, измельчали до мелкого порошка с использованием ступки с пестиком и хранили в контейнере. На рис. 1 представлено растение *Ocimum gratissimum* полностью, а также соответственно его листья, стебли и семена.

Подготовка проб для анализа методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. 10 г порошка растительного материала замачивали в 100 мл этанола и оставляли на 72 ч. Экстракт фильтровали с использованием фильтровальной бумаги Whatman № 1, остаток удаляли. Фильтрат упаривали досуха при 80°C и хранили при 4°C до дальнейшего анализа [15].

Проведение анализа. Все образцы экстрактов растения *Ocimum gratissimum* были подвергнуты детальному ГХ-МС-анализу для определения химических компонентов с использованием ГХ-масс-спектрометра GC/MATE II (JEOL Ltd., Япония) Состав соединений оценивали по их соответствующим относительным площадям пиков.

Идентификация соединений. Интерпретацию масс-спектра ГХ-МС проводили с использованием базы данных Национального института стандартов и технологий (National Institute of Standards and Technology, США). Спектр неизвестного компонента сравнивали со спектром известных компонентов, хранящимся в библиотеке Национального института стандартов и технологий.

ИК-Фурье-спектроскопический анализ. Инфракрасный спектрофотометр с преобразованием Фурье является наиболее важным и мощным инструментом для определения функциональных групп, присутствующих в образце. Длина волны поглощенного света является характеристикой химической связи. Химические связи в молекуле можно определить, интерпретируя инфракрасный спектр поглощения.

Процедура. Инфракрасные спектры всех высушенных порошкообразных образцов растений регистрировали с помощью альфа-Фурье-спектрометра Bruker с приставкой для снятия спектров методом нарушенного полного внутреннего отражения *esco ZnSe*, атмосферной компенсацией, размером интерферограммы 15192 точки и размером Фурье-трансформы 16 К, работающего в среднем инфракрасном диапазоне (4000–400 см⁻¹). Разрешение рабочего окна было задано в 512 × 256 пикселей [16, 17].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. Хроматограммы ГХ-МС этанольных экстрактов листьев, стеблей и семян растения *Ocimum gratissimum* показаны на рис. 2, а их интерпретация приведена в табл. 1–3.

ИК-Фурье-спектроскопический анализ. Спектры, полученные с помощью ИК-Фурье-спектроскопического анализа для сухих порошков из

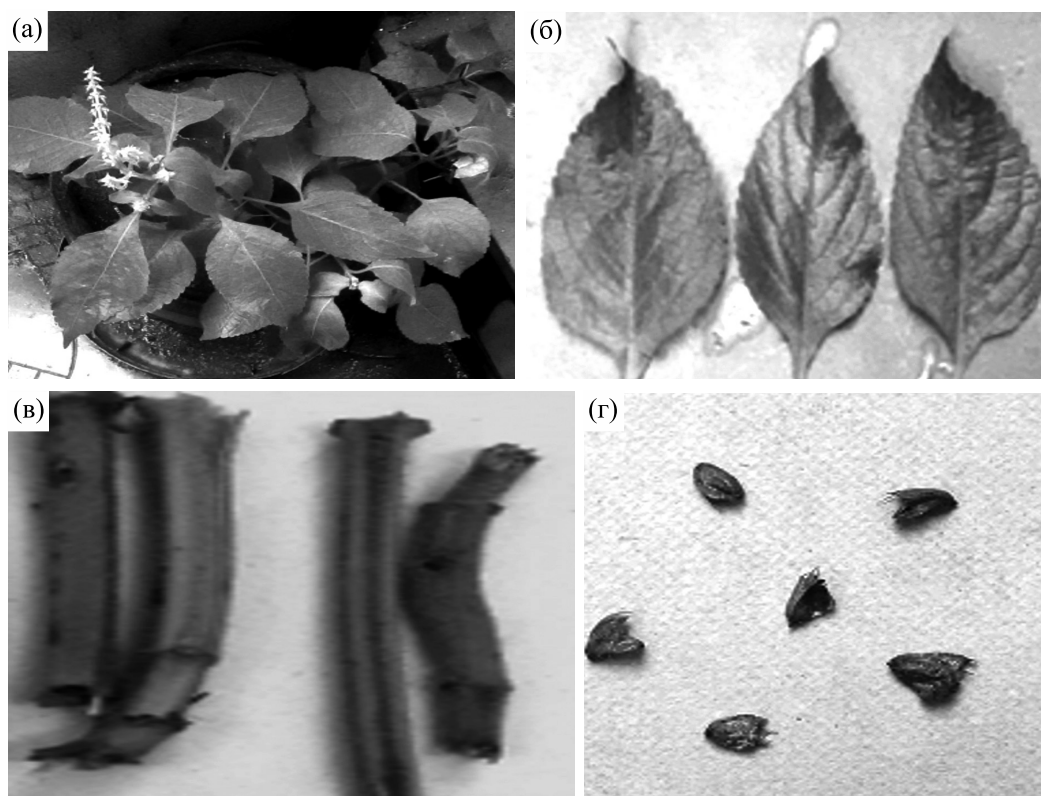


Рис. 1. Внешний вид целого растения *Ocimum gratissimum* (а), его листьев (б), стеблей (в) и семян (г).

листьев, стеблей и семян растения *Ocimum gratissimum*, представлены на рис. 3, а их групповая идентификация дана в табл. 4.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных, полученных методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. Результаты исследования листьев, стеблей и семян *Ocimum gratissimum* методом ГХ-МС приведены соответственно в табл. 1–3. Процентное содержание каждого химического соединения оценивали по относительной площади его пика на хроматограмме. Химические соединения, идентифицированные в листьях растения в большом количестве: эвгенол (30.57%), циклогексен-1-метанол-4-[1-метилэтил] ацетат (14.67%), кариофиллен (14.93%), артемизин (11.84%). Флавоны (9.46%) и 3-гидрокси-2-[3,4-метилendioксифенил]-4Н-хромен-4-он (9.60%) присутствовали в умеренном количестве, а соединения 3-метил-6-[1-метилэтилiden]-циклогексен (4.29%) и 1-гидрокси-3-метоксибензиловый спирт (4.64%) были идентифицированы в следовых количествах. Стебли содержали большое количество эвгенола (11.58%), кариофиллена (23.05%) и 3,5-

бис[1,1-диметилэтил]-фенол (23.62%). 1-Метилэтиловый эфир нонановой кислоты (7.47%), флавоны (8.74%), этил[2E,4E]-3,7,11-триметил-2,4-додекадиеноат (6.14%), олеиновая кислота (5.05%), октадекановая кислота (5.66%) и 3-метил-6-[1-метилэтилiden]-циклогексен (3.89%), 1-метил-4-[1-метилэтилiden]-циклогексанол (4.8%) присутствовали в умеренных количествах в стеблях растения. В семенах обнаружено больше эвгенола (11.9%), метил-альфа-ионона (24.86%) и флавоны (10.38%). Соединения 1-метилэтиловый эфир нонановой кислоты, (7.45%), 6-метоксифлавоны (6.97%) и наонадеканы (5.37%) присутствовали в умеренных количествах, а трицикло[4,4,0,0(3,9)]декан (4.36%), бицикло[2.2.1]гептан-2-он, 1,7,7-триметил-[n] (5.11%) — в следовых количествах [18–20]. Соединения эвгенол, кариофиллен и флавоны присутствовали во всех исследованных частях растения *Ocimum gratissimum*, однако артемизин присутствовал только в его листьях.

Анализ данных, полученных с помощью ИК-Фурье-спектроскопии. Зарегистрированные высокоинтенсивные пики при частотах 3866, 3861, 3860, 3735, 3736, 3618 и 3615 см^{-1} относятся к валентно-

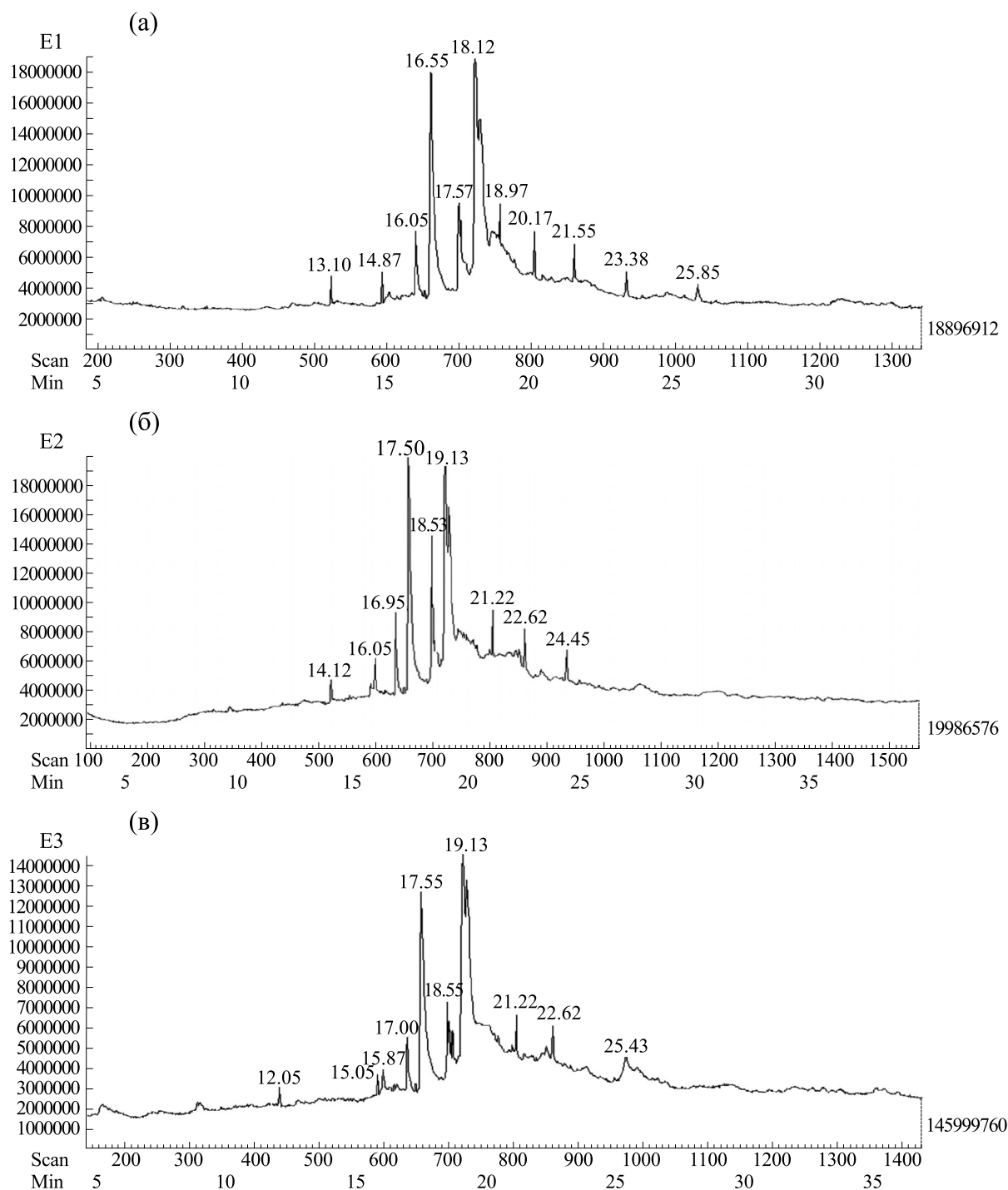


Рис. 2. ГХ-МС-хроматограммы экстрактов листьев растения *Ocimum gratissimum* (а), его стеблей (б) и семян (в).

му колебанию О–Н гидроксильной группы. Пики при 3388, 3394 и 3393 см^{-1} обусловлены валентным колебанием О–Н спиртовой группы. Валентное колебание группы карбоновой кислоты О–Н связано с пиками при 3232, 3223 и

3106 см^{-1} , а валентное колебание С–Н алкенов связано с пиками, присутствующими при 3013 и 3005 см^{-1} . Пики при 2922 и 2919 см^{-1} относятся к валентному колебанию С–Н алканов. Пики средней остроты при 2416, 2399 и 2406 см^{-1} относятся

Таблица 1. Химические соединения, присутствующие в экстракте листьев

Химические соединения	<i>RT</i> , мин	Площадь пиков, %	Формула	Молекулярная масса	Полученная масса
3-Метил-6-[1-метилэтилиден]-циклогексен	14.28	4.29	C ₁₀ H ₁₆	136	136.05
1-Гидрокси-3-метоксибензиловый спирт	16	4.64	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
Эвгенол	17.27	30.57	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164.06
Клогексен-1-метанол-4-[1-метилэтенил]ацетат	17.98	14.67	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	193.69
Кариофиллен	18.23	14.93	C ₁₅ H ₂₄	204	204
Флаван	18.9	9.46	C ₁₅ H ₁₀ O ₂	222	222
Артемизинин	19.98	11.84	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	262	262.52
3-Гидрокси-2-[3,4-метилendioксифенил]4Н-хромен-4-он	20.78	9.60	C ₁₆ H ₁₀ O ₅	282	282.53

Примечание. *RT* – время удерживания.**Таблица 2.** Химические соединения, присутствующие в экстракте листьев

Химические соединения	<i>RT</i> , мин	Площадь пиков, %	Формула	Молекулярная масса	Полученная масса
3-Метил-6-[1-метилэтилиден]-циклогексен	14.87	3.89	C ₁₀ H ₁₆	136	136
1-Метил-4-[1-метилэтилиден]-циклогексанол	16.03	4.80	C ₁₀ H ₁₈ O	154	154
Эвгенол	16.63	11.58	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164.02
1-Метилэтиловый эфир нонановой кислоты	17.57	7.47	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	200
Кариофиллен	18.22	23.05	C ₁₅ H ₂₄	204	204
3,5-бис[1,1-диметилэтил]- фенол	18.38	23.62	C ₁₄ H ₂₂ O	206	206
Флаван	19	8.74	C ₁₅ H ₁₀ O ₂	222	222
Этил[2Е, 4Е]-3,7,11- триметил-2,4-додекадиеноат	20.2	6.14	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	266	266.24
Олеиновая кислота	21.58	5.05	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	282
Октадекановая кислота	22.55	5.66	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	284

Примечание. *RT* – время удерживания.

Таблица 3. Химические соединения, присутствующие в экстракте семян

Химические соединения	<i>RT</i> , мин	Площадь пиков, %	Формула	Молекулярный вес	Полученная масса
Трицикло[4,4,0.0(3,9)]декан	14.08	4.36	C ₁₀ H ₁₆	136	136
Бицикло[2.2.1]гептан-2-он, 1,7,7-триметил-[n]-	16.02	5.11	C ₁₀ H ₁₈ O	152	152
Эвгенол	17.55	11.90	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164.20
1-Метилэтиловый эфир нонановой кислоты	18.53	7.45	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	200
Кариофиллен	19.18	23.60	C ₁₅ H ₂₄	204	204
Метил-альфа-ионон	19.35	24.86	C ₁₄ H ₂₂ O	206	206
Флаван	19.98	10.38	C ₁₅ H ₁₀ O ₂	222	222
6-метоксифлаван	21.18	6.97	C ₁₆ H ₁₂ O ₃	252	252.22
Нонадекан	22.57	5.37	C ₁₉ H ₄₀	268	268

Примечание. *RT* — время удерживания.

Таблица 4. Частоты поглощения FTIR (см⁻¹) и соответствующие ориентировочные интерпретации образца *Ocimum gratissimum*

Листья	Стебель	Семена	Предварительное присваивание
3866	3861	3860	O—H-растяжение, гидроксильная группа
3735	3736	3736	O—H-растяжение, гидроксильная группа
3618	3615	3618	O—H-растяжение, гидроксильная группа
3388	3394	3393	O—H-растяжение, спиртовая группа
3232	3223	—	O—H-растяжение, карбоксильная группа
—	3106	—	O—H-растяжение, карбоксильная группа
3013	3012	—	C—H-растяжение, алкены
—	2922	2919	C—H-растяжение алканов
2416	2399	2406	O—H-растяжение, кислые карбоновые кислоты
1668	1692	1668	C=O-растяжение, алкены (амиды)
1524	1524	1524	C=C-растяжение, ароматические кольца
—	1171	—	C—H-вверное колебание, (CH ₂ X)-алкилгалогениды
1033	—	1017	C≡N-растяжение, алифатические амины
—	966	—	C—H-изгиб, каротиноиды

Примечание. *RT* — время удерживания.

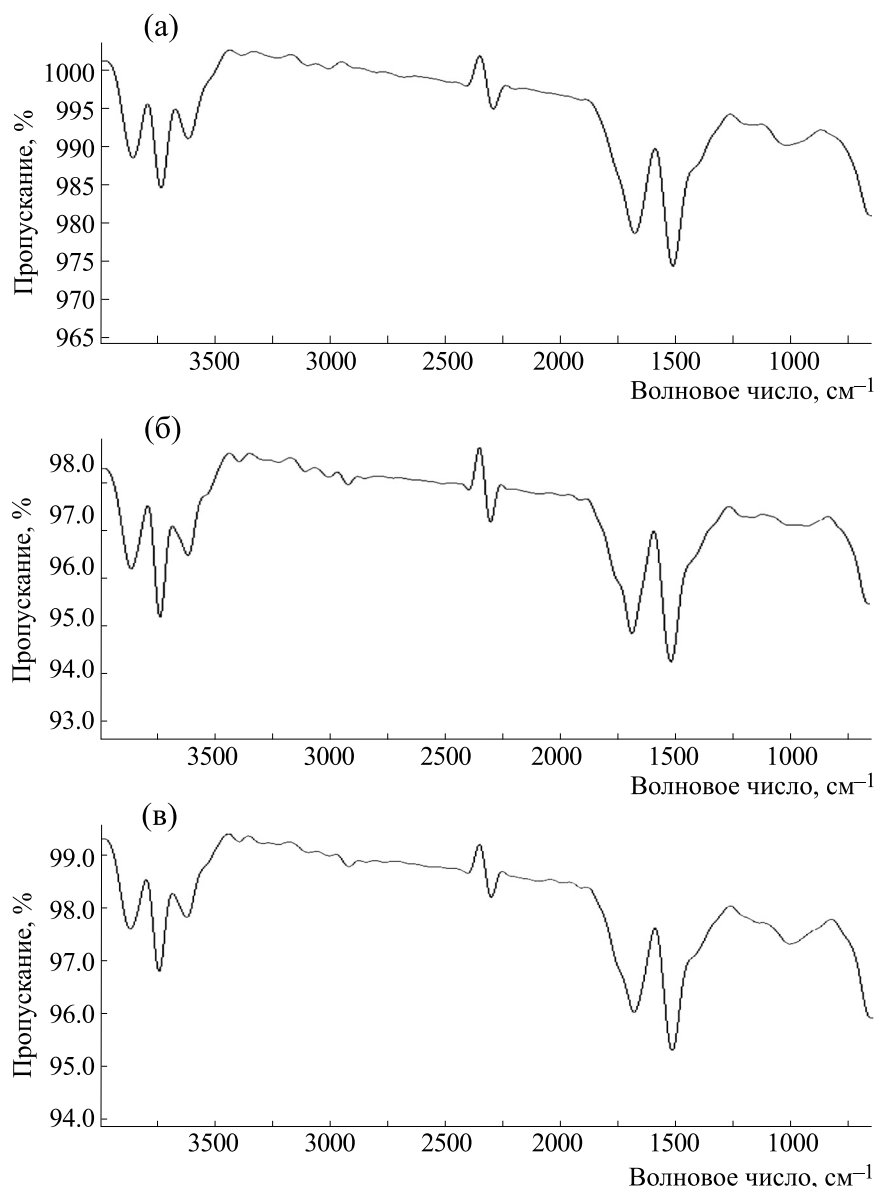


Рис. 3. ИК-Фурье-спектры листьев растения *Ocimum gratissimum* (а), его стеблей (б) и семян (в).

к О–Н-валентным колебаниям карбоновых кислот. Валентные колебания $C=O$ алкенов (амидов) связаны с наличием пиков при 1692 и 1668 см^{-1} . Сильный пик при 1524 см^{-1} возникает из-за $C=C$ -связей ароматического кольца. Слабый пик при 1171 см^{-1} приписывается $C-O$ -валентному колебанию (CH_2X) алкилгалогенидов. Пики при 1033 и 1017 см^{-1} обусловлены валентным колебанием $C-N$ алифатических аминов. Пик при 966 см^{-1} указывает на наличие изгибного колебания $C-H$ каротиноидов [21–25].

ВЫВОДЫ

Химические компоненты, обнаруженные в растении *Ocimum gratissimum*, отвечают за различные лечебные действия. Эвгенол обладает антиоксидантным, антимикотическим, противовирусным, дезинсекционным, противопаразитарным, противораковым действием и антимикробными свойствами, помогает в лечении сердечных и ряда биохимических заболеваний. Кариофиллин обладает биологической активностью, имеет противовирусное, противовоспалительное, анестезирующее, антиканцерогенное, антимикробное, противоопу-

холевое, обезболивающее, антибактериальное, цитотоксическое и противогрибковое действие. Сообщается, что камфора обладает противокандидозным, противовоспалительным и антидиабетическим действием. Недавние исследования показали, что артемизин может быть эффективен при лечении рака и проявляет противомаларийную активность. Флавоны снижают риск рака, болезней сердца, астмы и инсульта. Октадекановая кислота (стеариновая кислота) и октадеценная кислота или олеиновая кислота обладают гипохолестеринемической активностью из-за присутствия ингибитора 5- α -редуктазы [26–28]. ГХ-МС-анализ показывает, что лекарственные растительные материалы (листья, стебли и семена) *Ocimum gratissimum* содержат полезные химические соединения, такие как эвгенол, фитол, камфора, хлорофилл, октадекановая кислота, олеиновая кислота, изопропилпальмитат, артемизин, кариофиллин и т.д. По ИК-Фурье-спектроскопическим данным было обнаружено, что части растений содержат в качестве функциональных групп алканы, карбоновые кислоты, алкены и алифатические амины. Доказано, что части растений являются резервуаром биоактивных компонентов, имеющих фитотерапевтическое значение. Исследование создаст платформу для скрининга многих биологически активных соединений для лечения различных заболеваний у людей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Я.П. Сакунтала, хотел бы поблагодарить профессора Р. Селвараджу и доктора Калима Ахмеда Джалили за их постоянное руководство и поддержку в завершении исследовательской работы. Также выражаю сердечную благодарность Центральной исследовательской лаборатории, Женскому колледжу Р. Б. В. Р. Р., Хайдарабад, и Центру САП, ИИТ, Ченнаи, за предоставление необходимых условий для успешного завершения этой работы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. S. Villiathan, Curr. Sci. **75** (11), 1122 (1998).
2. H. I. Davidson, Model Assist. Statistics Applic. J. **16** (1), 13 (2000).
3. J. B. Harborne, *Text Book of Phytochemical Methods* (Chapman and Hall, Lond., 1973).
4. K. S. Santhosh and C. Uma, Int. J. Ayurvedic Med. **4** (4), 328 (2013).
5. V. Singh, S. Amdekar, and O. Verma, Webmed Central Pharmacol. **1** (10), MC001046 (2010).
6. S. Jain, Int. J. Maxi Res. **1** (1), 3 (2015).
7. G. Pandey, Int J. Pharm. Sci. Rev. Res. **5** (1), 61 (2010).
8. S. G. Buddhadev, Int. Peer Rev. Ayur. J. **2** (2), 1 (2014).
9. P. K. Kumar, Int. J. Adv. Pharm. Bio. Chem. **1** (3), 406 (2012).
10. B. Joseph, Brit. J. Pharm. Res. **3** (2), 273 (2013).
11. S. K. Gupta, J. Prakash, and S. Srivastava, Ind. J. Exp. Biol. **40** (7), 765 (2002).
12. D. N. Lethika, K. S. Santosh, and A. Arun, Int. J. Appl. Sci. Res. **3** (4), 130 (2016).
13. T. Kottke, et al., Biochemistry **45** (8), 2472 (2006).
14. A. Khoddami, et al., Molecules **18** (2), 2328 (2013).
15. L. K. Kanthal, A. Dey, K. Satyavathi, and P. Bhojaraju, Pharm. Res. **6** (1), 58 (2014).
16. G. M. Barrow, *Introduction to Molecular Spectroscopy* (McGraw-Hill, Kogakusha Ltd, 1962), Chapt. I, pp. 1–44.
17. L. J. Bellamy, *The infrared Spectra of Complex Molecules* (Chapman and Hall, Lond., 1975), Vol. 1 (3rd ed.).
18. R. K. Joshi, Acta Chromatographica **29** (1), 111 (2017).
19. L. G. Matasyoh, C. M. Josphat, N. W. Francis, et al., Afr. J. Biotechnol. **6** (6), 760 (2007).
20. P. R. Rastogi and B. N. Mehrotra, Compendium of Indian Medicinal Plants (New Delhi) **3**, 434, 455 (2001).
21. J. Gowri, S. P Arockia, V. Dharmalingama, et al., Int. J. Nano Corrosion Sci. Engineer. **2** (5), 322 (2015).
22. E. Malliga, M. S. Dhanarajan, and I. Elangovan, World J. Pharmaceut. Res. **4** (3), 1284 (2015).
23. H. Subrahmanian, P. Suriyamoorthy, and D. Kanakasabapathi, J. Pharmaceut. Sci. Res. **9** (11), 2062 (2017).
24. M. Kh. Baseri and S. Baker, Roman. J. Biophys. **21** (4), 277 (2011).
25. R. Selvaraju, P. Sakuntala, and A. J. Kaleem, Int. J. Emerging Technol. Engineer. Res. **5** (4), 131 (2017).
26. S. Balasubramanian, D. Ganesh, R. P. Shridhar, and V. V. S. Surya Narayana, Asian J. Pharmaceut. Analysis Med. Chem. **2** (2), 71 (2014).
27. K. K. Igwe, P. O. Nwankwo, I. E. Otuokere, et al., J. Res. Pharmaceut. Sci. **2** (11), 01–06 (2015).
28. J. M. Hannan, L. Marenah, L. Ali, et al., J. Endocrinol. **189** (1), 127 (2006).

GC-MS and FTIR Analysis of Chemical Compounds in Ocimum Gratissimum Plant**R. Selvaraju*, P. Sakuntala**, and K. A. Jaleeli*******Physics Section, Annamalai University, Chidambaram, Tamil Nadu, India****Department of Physics, RBVRR Women's college, Narayanaguda, Hyderabad, TS, India*****Department of Physics, Nizam College, O.U., Hyderabad, TS, India*

The determination of chemical compounds present in the leaves, stems and seeds of the *Ocimum gratissimum* plant has been carried out. Gas chromatography-mass spectroscopy showed the presence of eugenol, flavone, caryophyllene, oleic acid, phytol, octadecanoic acid, clohexene-1-methanol-4-[1-methylethenyl]-acetate, artemisinin, 3,5-bis[1,1-dimethylethyl]-phenol and methyl-alpha-ionone as major compounds. These compounds were already proved to possess antioxidant, antimycotic, antiviral, antiparasitic, anti-insect, anti-inflammatory, anaesthetic, anticarcinogenic, antimicrobial, antitumour, analgesic, antibacterial, fungicidal, cytotoxic and antifungal activities. The functional groups such as C=O, O-H, C-N and C=C were identified using FTIR spectroscopy.

Keywords: biological activities; ocimum gratissimum; gas chromatography-mass spectroscopy, FTIR, functional groups