

การพัฒนาตัวดูดซับดัดแปรด้วยไซยานิดินสกัดจากกะหล่ำปลีม่วงสำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะ  
หนักด้วยตาเปล่า



นางสาวรวงคนา เขาคดี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



5273846223

DEVELOPMENT OF SORBENT MODIFIED WITH CYANIDIN FROM RED CABBAGE  
EXTRACT FOR NAKED-EYE DETERMINATION OF HEAVY METAL IONS

Miss Warangkhana Khaodee



A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

Thesis Title DEVELOPMENT OF SORBENT MODIFIED WITH  
CYANIDIN FROM RED CABBAGE EXTRACT FOR  
NAKED-EYE DETERMINATION OF HEAVY METAL  
IONS


By Miss Warangkha Khaodee


Field of Study Chemistry

Thesis Advisor Assistant Professor Wanlapa Aeungmaitrepirom,  
Ph.D.


---

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial  
Fulfillment of the Requirements for the Doctoral Degree



.....Dean of the Faculty of Science  
(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)

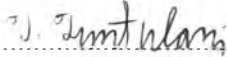
#### THESIS COMMITTEE

.....Chairman

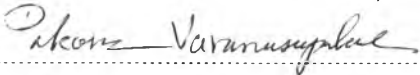
(Assistant Professor Suchada Chuanuwatanakul, Ph.D.)

.....Thesis Advisor


(Assistant Professor Wanlapa Aeungmaitrepirom, Ph.D.)

.....Examiner

(Professor Thawatchai Tuntulani, Ph.D.)

.....Examiner

(Assistant Professor Pakorn Varanusupakul, Ph.D.)

.....External Examiner

(Associate Professor Chakrit Sirisinha, Ph.D.)

วรางคณา เขาคี : การพัฒนาตัวดูดซับดัดแปรด้วยไซยานิดินสกัดจากกะหล่ำปลีม่วงสำหรับการตรวจวัดไอออนโลหะหนักด้วยตาเปล่า. (DEVELOPMENT OF SORBENT MODIFIED WITH CYANIDIN FROM RED CABBAGE EXTRACT FOR NAKED-EYE DETERMINATION OF HEAVY METAL IONS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.วิภา เอื้องไมตรีภรณ์, 109 หน้า.

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะใช้สารจากธรรมชาติเป็นรีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสี ดัดแปรบนของแข็งรองรับเพื่อตรวจวัดไอออนโลหะด้วยตาเปล่าทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ไซยานิดินจากกะหล่ำปลีม่วงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด สภาพคัดเลือกของวิธีนี้ทดสอบโดยพิจารณาพีเอชของสารละลายไซยานิดินร่วมกับการใช้มาสคิงเอเจนต์ ในขั้นตอนแรกศึกษาการตรวจวัดไอออนโลหะโดยใช้สารละลายไซยานิดิน พบว่า ไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) เกิดสารเชิงซ้อนอย่างชัดเจนกับไซยานิดิน การตรวจวัดไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) พร้อมกันใช้ไซยานิดินในสารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7, 6, 5 และ 4 ตามลำดับ ร่วมกับการเติม 0.1 โมลาร์โพแทสเซียมฟลูออไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ดีเอ็มจี และสารผสมของ 0.1 โมลาร์โพแทสเซียมฟลูออไรด์ กับ 1 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ดีเอ็มจี เป็นมาสคิงเอเจนต์สำหรับตรวจวัดไอออนเหล็ก(III) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนตะกั่ว(II) ตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดด้วยตาเปล่าของ ไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) คือ 50, 80, 50 และ 200 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ จากนั้นไซยานิดินถูกดัดแปรบนแอมเบอร์ไลต์ เอกซ์เอดี-7 เป็น AXAD-7Cy การศึกษานี้พบว่า AXAD-7Cy ที่เคลือบด้วยสารละลายไซยานิดินในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก/เมทานอล เข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร เป็นตัวดูดซับที่เหมาะสม พบว่า ไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) ก็สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสีบน AXAD-7Cy การตรวจวัดไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) พร้อมกัน ทำภายใต้สารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7, 6, 5 และ 4 ตามลำดับ เช่นเดียวกับรูปแบบสารละลายไซยานิดิน ใช้ 0.1 โมลาร์ไทโอยูเรีย และสารละลายผสมของ 0.1 โมลาร์ ไทโอยูเรียกับ 0.1 โมลาร์ โพแทสเซียมฟลูออไรด์ เป็นมาสคิงเอเจนต์สำหรับตรวจวัดไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนตะกั่ว(II) ตามลำดับ ขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า คือ 10, 200, 40 และ 60 ไมโครโมลาร์ สำหรับไอออนทองแดง(II) ไอออนตะกั่ว(II) ไอออนอะลูมิเนียม(III) และไอออนเหล็ก(III) ตามลำดับ ไซยานิดินในรูปแบบทั้งสารละลายและดัดแปรบนแอมเบอร์ไลต์ เอกซ์เอดี-7 สามารถประยุกต์ใช้อย่างมีประสิทธิภาพกับน้ำตัวอย่างจริง (น้ำสระและน้ำประปา) วิธีที่พัฒนานี้แสดงให้เห็นศักยภาพในการตรวจวัดไอออนโลหะเป้าหมายในระดับไมโครโมลาร์โดยมีความง่าย ความรวดเร็ว ราคาถูก ไม่มีการเตรียมตัวอย่าง และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเนื่องจากใช้สารทุกตัวในปริมาณน้อย

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมี

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนิสิต อ.วิภา เขาคี

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก CEW

# # 5273846223 : MAJOR CHEMISTRY

KEYWORDS: CYANIDIN / RED CABBAGE / NAKED-EYE / METAL ION DETECTION / SORBENT  
MODIFICATION

WARANGKHANA KHAODEE: DEVELOPMENT OF SORBENT MODIFIED WITH CYANIDIN  
FROM RED CABBAGE EXTRACT FOR NAKED-EYE DETERMINATION OF HEAVY METAL  
IONS. ADVISOR: ASST. PROF. WANLAPA AEUNGMAITREPIROM, Ph.D., 109 pp.

This research aims to use a natural product as colorimetric reagent modified on solid sorbent for naked-eye determination of metal ions in term of both qualitative and quantitative analysis. Cyanidin from red cabbage was the best choice. The selectivity of this method was examined by considering of the pH of cyanidin solution operated together with masking agent. At first step, metal ion detection was studied by using cyanidin solution. It was found that Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) clearly formed complexes with cyanidin. For simultaneous determination of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III), cyanidin in the buffer solution at pH 7, 6, 5 and 4, respectively, were employed along with using 0.1 M KF, 1% w/v DMG and the mixture of 0.1 M KF and 1% w/v DMG as masking agents for Fe(III), Al(III) and Pb(II) determination, respectively. The lowest concentrations for naked-eye detection of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) were 50, 80, 50 and 200  $\mu$ M, respectively. Next step, cyanidin was modified on Amberlite XAD-7 resin to be AXAD-7Cy. In this study, AXAD-7Cy coated with cyanidin in 0.6% v/v HCl/MeOH was appropriate sorbent. It was found that Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) also contributed the color change on AXAD-7Cy. The simultaneous determination of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) was operated under buffer solution at pH 7, 6, 5 and 4, respectively, as the same results testing in cyanidin solution. 0.1 M thiourea and the mixture of 0.1 M thiourea and 0.1 M KF were used as masking agents for Al(III) and Pb(II) determination, respectively. The detection limit observed by naked-eye was 10, 200, 40 and 60  $\mu$ M for Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) analysis, respectively. Cyanidin in form of both solution and modified on AXAD-7 could be potentially applied in real water sample (tap and pond water). This developed method showed the potentially determined target metal ions at the micromolar level with simplicity, rapidity, low cost, no sample preparation requirement, and environmental friendly detection due to using low volume of all reagents.

Department: Chemistry

Student's Signature Warangkhan Khao Dee

Field of Study: Chemistry

Advisor's Signature W. Aeungmaitrepirom

Academic Year: 2013



## ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my gratitude to Assistant Professor Dr. Wanlapa Aeungmaitrepirom who provides the constructive criticism, inspiration, and encouragement during my research and have been giving advisements for solving many problems through my experiments. With her informal relationship, insightful discussions and suggestions make me pleasure to progress my laboratory skills.

Moreover, I would like to thanks my thesis committees, Assistant Professor Dr. Suchada Chuanuwatanakul, Professor Dr. Thawatchai Tuntulani, Assistant Professor Dr. Pakorn Varanusupakul, Associate Professor Dr. Chakrit Sirisinha who give me opinions and valuable suggestions for my work and devote their valuable time for my thesis defense examination. I would like to thank Assistant Professor Dr. Apichat Imyim and Assistant Professor Dr. Fuangfa Unob for their advices and also thank the Office of the Higher Education Commission (OHEC) for supporting by grant fund under the program Faculty Development Scholarships and partially financial supported by the Thailand Research Fund (RTA5380003) and Ratchadaphiseksompoj Endowment Fund, Chulalongkorn University (GRU53-005-23-003 and GRU54-019-23-004) under Environmental Analysis Research Unit and Supramolecular Chemistry Research Unit.

Furthermore, sincere thanks to all members of EARU (Environmental Analysis Research Unit) for their kindness, encouragement and lovely friendship, and the good supports and suggestion concerning experimental techniques particularly from Dr. Wanwisa Janrungratsakul, Dr. Phetlada Kunthadee, Dr. Preecha Thiampanya. Ultimately, I am the most grateful to my family for their supports and encouragement at all time.



## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	xii
LIST OF FIGURES.....	xiv
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xvi
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1 Statement of the problem.....	1
1.2 Objectives and scope of the thesis.....	3
1.3 The benefits of this research.....	4
CHAPTER II THEORY AND LITERATURE REVIEW.....	5
2.1 Metal ion determination.....	5
2.1.1 Spectrochemical analysis.....	5
2.1.2 Electrochemical analysis.....	6
2.1.3 Determination of metal ions using colorimetric reagent.....	7
2.2 Plant pigments.....	8
2.3 Anthocyanin.....	11
2.3.1 Influent of pH.....	12
2.3.2 Co-pigmentation effect.....	13
2.3.3 Cyanidin.....	14
2.3.4 How to identify anthocyanin.....	15
2.4 Chemically modified solid sorbent.....	16



	Page
2.4.1 Modification method .....	17
2.4.2 Modified solid sorbent and its application.....	17
2.5 Literature review.....	21
2.5.1 Determination of metal ions using synthetic colorimetric reagent.....	21
2.5.2 Naked-eye determination of metal ions using colorimetric reagent .....	22
2.5.3 Determination of metal ions using natural colorimetric reagent .....	23
2.5.4 Modified solid sorbent for coloring sensor .....	25
CHAPTER III EXPERIMENTAL.....	27
3.1 Apparatus .....	27
3.1.1 UV-visible spectrophotometer.....	27
3.1.2 pH meter .....	27
3.1.3 Inductively coupled plasma spectrometer.....	27
3.1.4 Mass spectrometer .....	27
3.1.5 Nuclear magnetic resonance spectrometer.....	28
3.1.6 Diffuse reflectance ultraviolet visible (DR-UV-Vis) spectrophotometer....	28
3.2 Chemicals.....	28
3.3 Chemical solution preparation .....	30
3.3.1 Metal ion solutions.....	30
3.3.2 Buffer solutions .....	30
3.3.3 Masking agent solutions .....	30
3.3.4 Methanolic hydrochloric acid solutions.....	31
3.3.5 Cyanidin solutions .....	31
3.4 Extraction of cyanidin from red cabbage.....	31
3.5 Qualitative determination of metal ions using cyanidin solution .....	33





	Page
3.5.1 pH of the cyanidin solution.....	33
3.5.2 Masking agent .....	33
3.5.3 Cyanidin concentration and reaction time.....	34
3.5.4 Interfering ion effect.....	34
3.6 Quantitative determination of metal ions using cyanidin solution.....	35
3.7 Method validation for metal ion determination using cyanidin solution	35
3.8 Application in real water sample using cyanidin solution .....	36
3.9 Modification of solid sorbent .....	36
3.9.1 Solid sorbent type.....	36
3.9.2 Coating conditions.....	37
3.9.2.1. Effect of methanolic hydrochloric acid solution on stability of modified solid sorbent .....	37
3.9.2.2. Cyanidin concentration and coating time .....	38
3.10 Qualitative determination of metal ions using modified solid sorbent ...	38
3.10.1pH of the tested solution .....	38
3.10.2Masking agent .....	39
3.10.3Buffer concentration and the volume ratio of all reagents.....	39
3.10.4Reaction time .....	40
3.10.5Interfering ion effects .....	41
3.11 Quantitative analysis of metal ions using modified solid sorbent .....	42
3.12 Method validation for metal ion determination using cyanidin solution	42
3.13 Application in real water sample using cyanidin solution .....	43
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION .....	44
4.1 Extraction of cyanidin and its characterization.....	44
4.2 Qualitative determination of metal ions using cyanidin solution .....	49



	Page
4.2.1 pH of solution .....	49
4.2.2 Masking agents .....	52
4.2.3 Concentration of cyanidin and reaction time.....	55
4.2.4 Interfering ion effect.....	57
4.2.5 Summarization of the optimum conditions for qualitative determination using cyanidin solution .....	59
4.3 Quantitative determination of metal ions using cyanidin solution.....	61
4.3.1 Naked-eye detection.....	61
4.3.2 UV-Visible determination .....	63
4.4 Method validation for metal ion determination using cyanidin solution	64
4.5 Application in real water sample using cyanidin solution .....	66
4.6 Modification of solid sorbent .....	69
4.6.1 Solid sorbent type.....	69
4.6.2 Coating conditions.....	71
4.6.3 Cyanidin concentration and coating time .....	73
4.7 Qualitative determination of metal ions using modified solid sorbent ...	75
4.7.1 pH of the solution .....	75
4.7.2 Masking agent .....	76
4.7.3 Buffer concentration and the volume ratio of all reagents.....	77
4.7.4 Reaction time for determination of metal ions using AXAD-7Cy.....	81
4.7.5 Interfering ion effect.....	82
4.7.6 Summarization of the optimum conditions for qualitative determination using modified solid sorbent.....	83
4.8 Quantitative analysis of metal ions using AXAD-7Cy.....	86
4.9 Method validation for metal ion determination using AXAD-7Cy .....	88



	Page
4.10 Application in real water sample using AXAD-7Cy .....	90
CHAPTER V CONCLUSIONS.....	93
REFERENCES .....	96
VITA.....	109



## LIST OF TABLES

Table	Page
2.1 Natural plant pigments.....	9
2.2 Plant pigment interacting with metal ions .....	10
2.3 Common anthocyanin types.....	12
2.4 Modified solid sorbents and its applications .....	19
2.5 Physical properties of Amberlite XAD-7 .....	20
2.6 Modified solid sorbents as coloring sensor and its applications .....	26
3.1 All chemicals used .....	28
3.2 Buffer concentration and the volume ratio of all reagents tested.....	40
4.1 Maximum wavelength ( $\lambda_{max}$ ) of cyanidin at various pH.....	47
4.2 Stability of cyanidin solution .....	48
4.3 Some of masking agents .....	53
4.4 Masking agent tested for Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) detection at pH 6 .....	54
4.5 Qualitative detection condition for Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) using cyanidin solution.....	59
4.6 Semi-quantitative detection and limit of detection of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al (III) by naked-eye.....	62
4.7 Linear concentration and detection limit of Pb(II), Fe(III) and Al(III) determined by UV- Visible spectrophotometry .....	63
4.8 Accuracy of naked-eye detection compared with ICP-OES method using cyanidin solution.....	65
4.9 The results of naked-eye detection compared with spiked value and.....	67
4.10 Optimization of the volume ratio of all reagents .....	79
4.11 Optimum conditions for simultaneous determination of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) using AXAD-7Cy.....	84



2573194742

Table	Page
4.12 Semi-quantitative detection and limit of detection of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al (III) by using AXAD-7Cy .....	87
4.13 Comparative results of metal ion concentration determined by naked-eye detection and ICP-OES method using AXAD-7Cy .....	89
4.14 The results of naked-eye detection using AXAD-7Cy compared with spiked value and ICP-OES using AXAD-7Cy.....	91



## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1.1 Cyanidin structure.....	2
2.1 Plant pigment structures.....	10
2.2 Structure of an acylated anthocyanin.....	11
2.3 Anthocyanin structures and its color depended on pH of solution .....	13
2.4 Spectrum pattern of anthocyanin molecule.....	15
2.5 Amberlite XAD-7 structure.....	20
2.6 Catechol unit of anthocyanin structure .....	23
4.1 Cyanidin extracted from red cabbage .....	44
4.2 UV-Visible spectrum of extracted cyanidin .....	45
4.3 Mass spectrum of cyanidin extracted from red cabbage .....	45
4.4 <sup>1</sup> H-NMR spectrum of cyanidin extracted from red cabbage .....	46
4.5 Complexation of cyanidin and metal ions depended on pH of solution.....	49
4.6 Cyanidin-metal complex formation .....	50
4.7 Cy-Cu(II) complex.....	51
4.8 Masking agent of Al(III) naked-eye detection at pH 6.....	54
4.9 Effect of cyanidin concentration along with reaction time on complexation.....	56
4.10 Interfering effects from cations and anions for Cy-metal complex.....	58
4.11 Interfering effect from target metal ion for Cy-metal complex.....	58
4.12 Simultaneous qualitative detection of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al (III).....	60
4.13 Example of simultaneous qualitative determination of mix metal ion using cyanidin solution.....	60
4.14 Color chart of Cy-metal complex for semi-quantitative analysis.....	62
4.15 Appearance comparison of selected solid sorbent coated with cyanidin.....	70
4.16 IR spectra of AXAD-7, AXAD-7Cy and cyanidin.....	71



Figure	Page
4.17 Proposed structure of AXAD-7Cy.....	71
4.18 Comparison of AXAD-7 coating.....	73
4.19 Stability of AXAD-7Cy.....	73
4.20 Spectra of modified solid sorbents at various cyanidin concentrations and coating times determined by DR-UV-Vis spectrophotometry.....	74
4.21 Comparison of AXAD-7Cy at different cyanidin concentrations for Cu(II) naked-eye detection.....	75
4.22 Complexation of cyanidin on AXAD-7Cy and metal ions depended on pH solution.....	76
4.23 Comparison of 1.0% DMG (a) and 0.1 M thiourea (b) as masking agent for simultaneous naked-eye detection using AXAD-7Cy.....	77
4.24 Comparison of Pb(II) detection under condition 4 and 7.....	81
4.25 Reaction time of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) determination using AXAD-7Cy.....	82
4.26 Interfering ion effect for determination of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) using AXAD-7Cy.....	83
4.27 Simultaneous determination of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) using AXAD-7Cy.....	84
4.28 Simultaneous determination of mixed standard metal ions.....	85
4.29 Quantitative determination of Cu(II), Pb(II), Fe(III) and Al(III) using AXAD-7Cy.....	86



## LIST OF ABBREVIATIONS

ICP-AES	=	inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry
ICP-OES	=	inductively coupled plasma optical emission spectrometry
AAS	=	atomic absorption spectrometry
UV-Vis	=	ultraviolet-visible spectroscopy
MS	=	mass spectrometry
NMR	=	nuclear magnetic resonance spectrophotometry
AXAD-7	=	Amberlite XAD-7 resin
AXAD-2	=	Amberlite XAD-2 resin
Cy	=	cyanidin
M	=	molar
$\mu\text{M}$	=	micromolar
$^{\circ}\text{C}$	=	degree celsius
LOD	=	limit of detection
g	=	gram
DMG	=	dimethylglyoxime
nm	=	nanometer
mL	=	milliliter
RSD	=	relative standard deviation
Cy 3-glc	=	cyanidin 3-glycoside
Cy 3,5-glc	=	cyanidin 3,5-glycoside
$\log K_f$	=	logarithm of complex formation constant



2573194742