

Nghiên cứu chế tạo màng chỉ thị pH trên nền vật liệu xenlulo nhuộm bằng chất màu anthocyanin chiết xuất từ bắp cải tím

Fabrication of a Visual pH Indicator Based on Cellulosic Materials and Anthocyanin Dyes Extracted from Red Cabbage

Nguyễn Ngọc Thăng^{1*}, Phạm Đức Dương¹, Võ Thị Lan Hương²

¹ Trường Đại học Bách khoa Hà Nội - Số 1, Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

² Trường Đại học Công nghiệp Dệt May Hà Nội - Lê Chi, Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Đến Tòa soạn: 24-9-2017; chấp nhận đăng: 28-3-2018

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, chất màu anthocyanin trong bắp cải tím được chiết bằng dung môi etanol với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Chất màu này được gắn trên màng xơ xenlulo và màng xenlophan bằng phương pháp nhuộm tận trích. Dung dịch chất màu anthocyanin và các vật liệu nhuộm màu đều có khả năng chỉ thị pH trong khoảng từ 1 đến 13 thông qua sự thay đổi màu sắc từ đỏ đến vàng. Phổ hấp thụ phân tử UV-Vis của dung dịch chất màu ở các pH khác nhau cho thấy có sự dịch chuyển của bước sóng hấp thụ cực đại về vùng hồng ngoại khi giá trị pH tăng lên, chứng tỏ cấu trúc phân tử anthocyanin đã bị biến đổi. Các vật liệu nhuộm màu này đã được chứng minh có khả năng phát hiện sự biến chất của sữa đậu nành thông qua sự thay đổi màu sắc từ tím sang đỏ. Do vậy, vật liệu nhuộm bằng chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím có thể ứng dụng như một vật liệu cảm biến pH để nhận biết sự biến chất của thực phẩm.

Từ khóa: Bắp cải tím, Anthocyanin, Vật liệu xenlulo, Vật liệu cảm biến pH.

Abstract

In this paper, the anthocyanin compounds from Red cabbage were extracted by ultrasound-assisted extraction (UAE) technology using acid-ethanol solvent. These natural colorants were immobilized to a non-woven cellulose membrane and a cellophane film using exhaust dyeing method. The anthocyanin extract solutions and cellulosic films loaded with anthocyanin colorant showed visibly distinct colors at all pH range from 1 to 13. The ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrum of anthocyanin extract solutions showed a red shift of the maximum peak absorbance to longer wavelengths at higher pH-values, which indicates that chemical structure of anthocyanins have been altered. An application test was conducted for potential use of these dyed films as soybean milk spoilage sensors. The pH-sensing films showed pH changes and spoilage point of soybean milk samples, changing from violet to red. Therefore, the use of these colorimetric pH-sensing films as a diagnostic tool for the detection of food spoilage is a promising path.

Keywords: Red cabbage, Anthocyanin, Cellulosic material, pH-sensing film.

1. Tổng quan

Màu sắc đóng vai trò quan trọng trong cuộc sống hằng ngày của chúng ta. Các vật liệu mà màu sắc có thể thay đổi thuận nghịch khi bị kích thích bởi các yếu tố bên ngoài như ánh sáng, nhiệt độ và pH đang thu hút nhiều nhà nghiên cứu trong thời gian gần đây, đặc biệt trong lĩnh vực cảm biến [1-2]. Các vật liệu chỉ thị pH là những vật liệu có khả năng thay đổi màu sắc khi thay đổi pH của môi trường, đã được nghiên cứu và ứng dụng để làm quần áo bảo hộ, băng vết thương, màng lọc [2-5]. Một số chất chỉ thị và thuốc nhuộm đã được tổng hợp có khả năng thay đổi màu sắc theo pH môi trường [3-4]. Tuy nhiên, các chất chỉ thị và thuốc nhuộm tổng hợp này có khả năng gây ảnh hưởng tiêu cực cho môi trường và

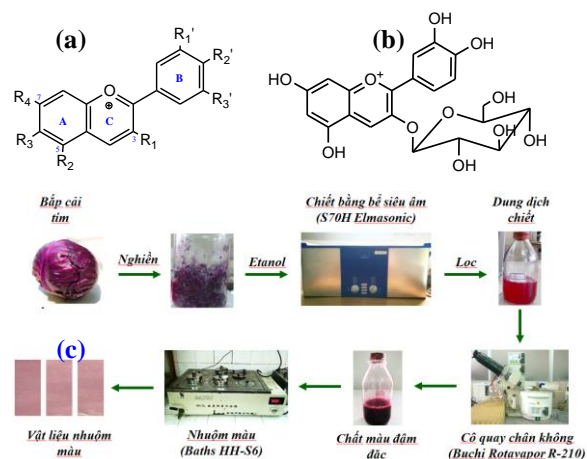
người sử dụng. Do đó, việc nghiên cứu chiết tách các chất màu tự nhiên có khả năng chỉ thị pH, an toàn với con người và thân thiện với môi trường đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm [2,6-8].

Trong các chất màu tự nhiên, hợp chất anthocyanin, thuộc nhóm flavonoid, không những có khả năng thay đổi màu sắc theo pH mà còn có các tính chất tốt khác như khả năng hòa tan trong nước, độ bền ánh sáng khá tốt và khá bền nhiệt [2]. Anthocyanin có trong nhiều loài thực vật với hàm lượng, thành phần và màu sắc khác nhau tùy thuộc vào loài, giống và môi trường sinh trưởng. Bắp cải tím là một trong những nguồn chứa hàm lượng anthocyanin cao với 24 hợp chất đã được phân lập, chủ yếu là cyanidin-3,5-diglucosid, cyanidin-3-sophorozit-5-glucosid và các dạng acrylat hóa khác [7-9]. Công thức cấu tạo chung của chất màu anthocyanin và của một anthocyanin điển hình

* Địa chỉ liên hệ: (+84) 904 309930
Email: thang.nguyennngoc@hust.edu.vn

cyanidin-3-glucozit (C3G) được biểu diễn lần lượt trong hình 1a và hình 1b. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chất màu anthocyanin trong bắp cải tím có độ ổn định tốt hơn chất màu này trong các nguồn thực vật khác. Điều này có được là do hợp chất anthocyanin trong bắp cải tím có chứa các nhóm chức acylat, giúp bảo vệ các nhóm chức hydroxyl. Vì những đặc tính tốt này nên chúng tôi chọn bắp cải tím làm đối tượng nghiên cứu để chiết tách chất màu anthocyanin dùng để chế tạo vật liệu chỉ thị pH.

Xenlulo là vật liệu tự nhiên, có trữ lượng lớn và khả năng phân hủy sinh học nên được sử dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau ở dạng nguyên liệu ban đầu hoặc được biến tính [5]. Vật liệu này có ái lực tốt với nhiều loại thuốc nhuộm và chất màu tự nhiên nên đã được sử dụng để nhuộm màu. Với mục đích chế tạo màng chỉ thị pH sinh thái nên nghiên cứu này sẽ sử dụng màng xơ xenlulo không dệt và màng xenlophan để làm vật liệu nền cho việc gắn kết chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím. Các vật liệu nhuộm màu này sẽ được đánh giá khả năng nhận biết sự thay đổi pH môi trường thông qua biến đổi màu sắc trong vùng ánh sáng nhìn thấy và khả năng ứng dụng làm vật liệu cảm biến pH để phát hiện sự biến chất của sữa đậu nành.



Hình 1. (a) Công thức cấu tạo chung của anthocyanin; (b) Công thức cấu tạo của cyanidin-3-glucozit; (c) Sơ đồ quy trình chiết tách chất màu từ bắp cải tím và nhuộm màu vật liệu xenlulo.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bắp cải tím Đà Lạt được cung cấp bởi siêu thị VinMart. Sữa đậu nành mua ở chợ truyền thống tại Hà Nội. Vật liệu xenlulo dùng trong nghiên cứu bao gồm màng xơ xenlulo - giấy lọc Whatman #2, 106 g/m² của Macherey-Nagel GmbH & Co. KG., Đức; màng xenlophan không tráng phủ (35 × 44 cm) của Sigma Aldrich. Các hóa chất sử dụng trong nghiên

cứ bao gồm etanol, axit formic, axit clohydric, kali clorua, kali hydrophthalat, natri hydroxit, kali dihydro photphat, kali hydro photphat, kali hydro cacbonat, borax, amoni hydroxit được cung cấp bởi công ty hóa chất Xilong, Trung Quốc. Các thí nghiệm và phân tích được thực hiện tại Trung tâm thí nghiệm Vật liệu Dệt may - Da giày và PTN dự án JST - JICA ESCANBER, Đại học Bách khoa HN.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết chất màu anthocyanin

Chất màu anthocyanin được chiết từ bắp cải tím theo phương pháp ngâm chiết có sự trợ giúp của sóng siêu âm, tại điều kiện chiết tối ưu đã được xác định trong một công trình nghiên cứu đã công bố của chúng tôi [10]. Theo đó, bắp cải tím đã nghiền nhỏ được bổ sung dung môi etanol đã axit hóa bằng axit fomic 1% theo tỷ lệ rắn-lỏng là 1/5 (g/ml), và tiến hành chiết tách chất màu trong bể rửa siêu âm công suất 750W (S70H Elmasonic, Đức). Điều kiện chiết bao gồm nhiệt độ 65 °C, thời gian 35 phút và nồng độ etanol 10 %.

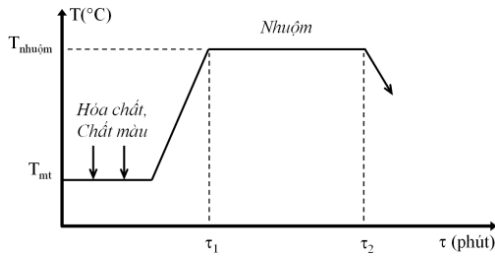
Sau khi chiết, dung dịch chất màu được phân tách qua giấy lọc và cất quay chân không (Buchi Rotavapor R-210) để cô đặc dịch chiết. Dung dịch chất màu đậm đặc này được đo mật độ quang bằng thiết bị Unico 4802 Double Beam UV/Vis Spectrophotometer, xác định giá trị độ hấp thụ cực đại của chất màu. Sử dụng phương pháp pH vi sai để tính hàm lượng anthocyanin tổng có trong dịch chiết cô đặc, làm căn cứ để xác định đơn công nghệ nhuộm màu vật liệu xenlulo [10-11]. Quy trình chiết tách chất màu từ bắp cải tím và nhuộm màu vật liệu xenlulo được trình bày trong hình 1c.

2.2.2. Nhuộm màu vật liệu xenlulo

Dung dịch chất màu cô đặc sau khi xác định hàm lượng anthocyanin tổng được xử lý bằng dung dịch NH₄OH để trung hòa lượng axit formic tồn dư trong dịch chiết. Hàm lượng anthocyanin tổng trong dung dịch chất màu sau trung hòa và pha loãng bằng nước cất để đạt nồng độ 15g C3G/l. Sử dụng dung dịch chất màu này để nhuộm cho màng xenlophan và màng xơ xenlulo. Đơn công nghệ nhuộm và quy trình nhuộm cho màng xenlophan và màng xơ xenlulo được trình bày trong bảng 1 và hình 2. Điều kiện nhuộm cho màng xenlophan là ở 80 °C trong 6 giờ, và màng xơ xenlulo là ở 80 °C trong 1 giờ.

Bảng 1. Đơn công nghệ nhuộm cho vật liệu xenlulo

Khối lượng vật liệu	m	(g)
Dung tỷ	1/30	(g/ml)
1. NH ₄ OH, 5%	1	(ml/l)
2. Dung dịch anthocyanin, 15g/l	100	(ml/l)



Hình 2. Quy trình nhuộm màu cho vật liệu xenlulo.

2.2.3. Đánh giá khả năng chỉ thị pH của chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím

Chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím ở dạng dung dịch và trên vật liệu nền xenlulo được khảo sát khả năng chỉ thị pH thông qua sự thay đổi màu sắc. Các dung dịch đệm được chuẩn bị bao gồm pH = 1 (KCl + HCl), pH = 3 (KHC₈H₄O₄ + HCl), pH = 5 (KHC₈H₄O₄ + NaOH), pH = 7 (KH₂PO₄ + K₂HPO₄), pH = 9 (Na₂B₄O₇ + HCl), pH = 11 (NaHCO₃ + NaOH), pH = 13 (KCl + NaOH).

Dung dịch chất màu anthocyanin được pha loãng bằng nước cất đến nồng độ 20 mg/l để dễ quan sát sự thay đổi màu sắc khi nhỏ vào các dung dịch đệm có pH từ 1 đến 13 đựng trong các đĩa petri (đường kính 50 mm). Đo quang phổ hấp thụ các dung dịch này trên máy UV-Vis với bước sóng từ 400-700 nm để xác định độ hấp thụ cực đại λ_{max}, là đặc trưng cho mỗi dạng cấu trúc của phân tử anthocyanin trong dung dịch pH tương ứng.

Các tấm màng xenlophan và màng xơ xenlulo đã được nhuộm màu anthocyanin được cắt thành các miếng nhỏ với kích thước 1 × 1 cm, đặt vào các đĩa Petri chứa các dung dịch pH khác nhau và quan sát sự thay đổi màu sắc. Sử dụng giấy pH thương mại làm mẫu đối chứng để đánh giá khả năng chỉ thị của các vật liệu này.

2.2.4. Khảo sát khả năng nhận biết của chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím đối với sự phân hủy theo thời gian của sữa đậu nành

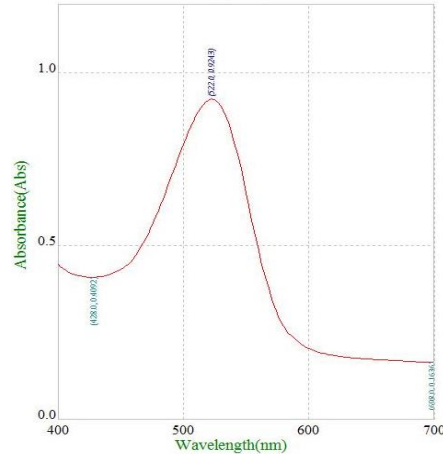
Lấy 0,5ml dung dịch chất màu anthocyanin nồng độ 20 mg/l, các mảnh nhỏ của vật liệu xenlulo đã nhuộm cho vào các đĩa Petri chứa 3 ml sữa đậu nành, ở nhiệt độ phòng. Quan sát sự thay đổi màu sắc của vật liệu chỉ thị theo thời gian khảo sát (0 - 12 giờ). Sử dụng giấy pH thương mại làm mẫu đối chứng để đánh giá khả năng chỉ thị màu vật liệu chỉ thị pH chế tạo.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phổ hấp thụ UV-Vis của chất màu chiết từ bắp cải tím

Phổ hấp thụ phân tử UV-Vis của dung dịch chất màu chiết tách từ bắp cải tím được trình bày trên hình

3. Quan sát phổ ta thấy chất màu chiết từ bắp cải tím có bước sóng hấp thụ cực đại λ_{max} = 522 nm. Theo các công trình nghiên cứu đã công bố, bước sóng hấp thụ cực đại các phân tử anthocyanin nằm trong khoảng 510 - 540 nm. Điều này chứng tỏ dịch chiết thu được từ bắp cải tím giàu anthocyanin, và kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu đã công bố về bước sóng hấp thụ cực đại của chất màu trong bắp cải tím [2, 7-10].



Hình 3. Phổ hấp thụ phân tử UV-Vis của chất màu chiết từ bắp cải tím.

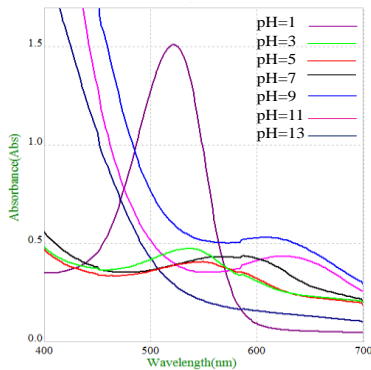
3.2. Khả năng chỉ thị pH của chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím

Kết quả chỉ thị màu với các dung dịch đệm có pH khác nhau của chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím ở dạng dung dịch và trên vật liệu nền xenlulo được trình bày trong hình 4. Ta thấy rằng chất màu anthocyanin ở dạng dung dịch hay trên vật liệu nền xenlulo đều có sự thay đổi màu rõ rệt khi pH thay đổi từ 1 đến 13. So sánh với giấy pH thương mại cho thấy sự thay đổi màu của anthocyanin là tương đương với khả năng chỉ thị của giấy pH.

	pH=1	pH=3	pH=5	pH=7	pH=9	pH=11	pH=13
Antho							
Antho/Xelu							
Antho/Xelo							
Giấy pH							

Hình 4. Sự thay đổi màu theo pH môi trường của dung dịch chất màu anthocyanin (Antho), màng xơ xenlulo nhuộm màu (Antho/Xelu), màng xenlophan nhuộm màu (Antho/Xelo) và giấy chỉ thị pH thương mại.

Để giải thích ảnh hưởng của pH đến sự thay đổi cấu trúc phân tử của chất màu anthocyanin, phổ hấp thụ phân tử UV-Vis của các dung dịch chất màu trong các pH khác nhau được thực hiện, kết quả trình bày trong hình 5. Quan sát phổ hấp thụ ta thấy có sự dịch chuyển bước sóng hấp thụ cực đại theo chiều tăng của pH. Cụ thể bước sóng hấp thụ cực đại của chất màu trong các dung dịch có pH = 1, 3, 5, 7, 9, 11 và 13 lần lượt là 520, 538, 550, 560, 586, 610 và 624 nm. Như vậy, sự thay đổi màu anthocyanin của bắp cải tím trong các pH khác nhau là do cấu trúc phân tử chất màu bị biến đổi gây ra [11-13].



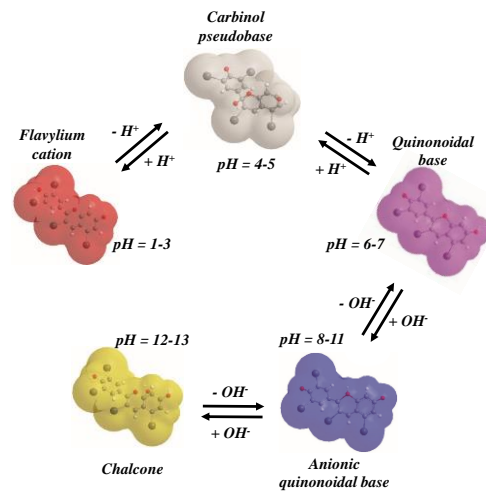
Hình 5. Phổ hấp thụ phân tử UV-Vis của dung dịch chất màu anthocyanin trong các môi trường pH.

Theo các công trình nghiên cứu đã công bố, trong môi trường axit mạnh (pH = 1-3), anthocyanin tồn tại dạng cation flavilium có màu đỏ. Khi pH tăng, vòng pyran C trong phân tử anthocyanin (hình 1a) bị hydrat hóa làm phân tử chất màu chuyển dần sang dạng carbinol không màu. Trong môi trường kiềm, có sự chuyển dịch H⁺ từ nhóm -OH trên vòng B (hình 1a) làm phân tử anthocyanin chuyển sang dạng anion có màu xanh. Khi pH càng cao, các H⁺ trong nhóm chức -OH còn lại bị phân hủy làm giảm sự linh động của điện tử trong mạch chất màu, làm dung dịch trở nên xanh hơn, bước sóng hấp thụ dài hơn. Khi pH lớn hơn 12, phân tử chất màu bị biến đổi về dạng chalcone có màu vàng. Trong môi trường trung tính, cả hai dạng cấu trúc này đều tồn tại nên dung dịch có màu tím. Sự thay đổi cấu trúc phân tử và màu sắc của anthocyanin trong các môi trường pH được trình bày trong hình 6. Như vậy, màu sắc của các phân tử gắn liền với cấu hình điện tử và sự thay đổi của nhóm -OH trên phân tử anthocyanin. Vì thế, chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím có thể ứng dụng như một chất chỉ thị pH cho các môi trường axit-bazơ.

3.3. Ứng dụng chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím để nhận biết sự phân hủy của sữa đậu nành

Các sản phẩm từ đậu nành như sữa đậu nành, đậu phụ dễ bị vi khuẩn tấn công, lên men làm sản

phẩm bị chua, hỏng [14]. Để nhận biết sự phân hủy của các sản phẩm này thông thường chúng ta có thể sử dụng khứu giác hoặc vị giác. Điều này có thể gây ra sự khó chịu hoặc không có lợi cho sức khỏe. Với các sản phẩm từ đậu nành được bao gói, việc phát hiện ra sự phân hủy của sản phẩm, có thể xảy ra trước khi hết hạn sử dụng, lại càng khó hơn. Nếu trên bao bì của các sản phẩm này có gắn dải vật liệu chỉ thị pH sinh thái, không độc hại để nhận biết sự axit hóa - sản phẩm bị chua - thông qua sự thay đổi màu sắc thì người tiêu dùng có thể nhận biết và tránh sử dụng sản phẩm đã hỏng. Ngoài ra, sử dụng các kit thử chứa chất chỉ thị pH sinh thái để kiểm tra nhanh sự biến chất của thực phẩm, đồ uống cũng rất hữu dụng.



Hình 6. Sự thay đổi cấu trúc phân tử và màu sắc của anthocyanin trong các môi trường pH [12].

Sữa đậu nành	Dung dịch Antho	Antho/Xelo		Antho/Xelo		Giấy pH	
		Sữa	Nước	Sữa	Nước	Sữa	Nước
Mới mua							
Sau 6 giờ							
Sau 12 giờ							

Hình 7. Khả năng nhận biết sự phân hủy của sữa đậu nành bằng chất màu anthocyanin ở dạng dung dịch và dạng gắn trên vật liệu nền xenlulo thông qua sự thay đổi màu sắc theo thời gian.

Để hiện thực hóa ý tưởng này, chúng tôi đã sử dụng các vật liệu chỉ thị pH được chế tạo ở trên để kiểm tra sự phân hủy của sữa đậu nành theo thời gian. Trong nghiên cứu này, tác giả đã sử dụng giấy pH thương mại để kiểm chứng. Do chất màu nhuộm trên các vật liệu xenlulo ở trạng thái khô và trạng thái ướt có thể khác nhau chút ít nên chúng tôi có sử dụng nước cất để làm môi trường so sánh màu sắc vật liệu ở trạng thái ướt. Kết quả khảo sát thể hiện trên hình 7

cho thấy chất màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím ở dạng dung dịch, gắn trên màng xơ xenlulo và màng xenlophan đều không thay đổi màu với sản phẩm sữa đậu nành tươi. Tuy nhiên, sau 6 giờ bảo quản ở nhiệt độ phòng màu của vật liệu chỉ thị chuyển từ màu tím sang phớt hồng, và sự đổi màu này càng rõ rệt sau 12 giờ lưu trữ. Sử dụng giấy pH thương mại để kiểm chứng cho thấy có sự thay đổi pH của sản phẩm sữa theo thời gian, làm giấy pH chuyển màu từ vàng ánh xanh sang màu cam ánh đỏ. Nguyên nhân gây ra sự thay đổi màu trên các mẫu vật liệu chỉ thị là do sữa đậu nành đã bị vi sinh vật phân hủy, lên men chuyển hóa đường thành axit lactic và phân hủy protein thành các axit amin, làm sữa bị chua theo thời gian [14]. Như vậy, các vật liệu nhuộm màu anthocyanin trong nghiên cứu này đều có khả năng nhận biết sự phân hủy của sữa đậu nành theo thời gian, trong đó màng xơ xenlulo nhuộm màu tốt hơn nên chỉ thị rõ ràng hơn màng xenlophan nhuộm màu. Màng xơ xenlulo nhuộm màu anthocyanin có thể ứng dụng làm kit thử pH và màng xenlophan nhuộm màu có thể làm màng bọc thực phẩm chỉ thị pH.

4. Kết luận

Trong bài báo này, chất màu anthocyanin trong bắp cải tím được chiết bằng dung môi etanol, với sự trợ giúp của sóng siêu âm, tại điều kiện nhiệt độ 65 °C, thời gian 35 phút và nồng độ etanol 10 %. Chất màu anthocyanin đã được nhuộm cho màng xơ xenlulo và màng xenlophan để làm vật liệu cảm biến pH. Các vật liệu nhuộm màu anthocyanin này đều có khả năng chỉ thị pH trong khoảng từ 1 đến 13 thông qua sự thay đổi màu sắc từ đỏ đến vàng. Sử dụng phương pháp đo phổ hấp thụ phân tử UV-Vis với các dung dịch chất màu ở các pH khác nhau cho thấy cấu trúc phân tử anthocyanin đã bị biến đổi theo pH gây ra sự thay đổi bước sóng hấp thụ cực đại. Các vật liệu nhuộm màu này đã được chứng minh có khả năng phát hiện sự biến chất của sữa đậu nành theo thời gian thông qua sự thay đổi màu sắc. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng ứng dụng của vật liệu nhuộm màu anthocyanin chiết từ bắp cải tím trong như một chất chỉ thị pH an toàn, sinh thái.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ Trường ĐHBK Hà Nội thông qua đề tài cấp Trường T2016-PC-081. Đồng thời cảm ơn các thầy cô Bộ môn Vật liệu & CN Hóa dệt, Viện Dệt may - Da giày và Thời trang, PTN dự án JST - JICA ESCANBER đã hỗ trợ để nhóm hoàn thành nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

[1] Wencel, D., Abel, T. and McDonagh, C., 2013. Optical chemical pH sensors. *Analytical chemistry*, 86(1), 15-29.

[2] Khan, P.M.A. and Farooqui, M., 2011. Analytical Applications of Plant Extract as Natural pH Indicator: A Review. *Journal of Advanced Scientific Research*, 2(4), 20-27.

[3] Gotor, R., et al., 2017. Optical pH sensor covering the range from pH 0-14 compatible with mobile-device readout and based on a set of rationally designed indicator dyes. *Analytical Chemistry*, 89(16), 8437-8444.

[4] Mohr, G.J. and Müller, H., 2015. Tailoring colour changes of optical sensor materials by combining indicator and inert dyes and their use in sensor layers, textiles and non-wovens. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 206, pp.788-793.

[5] Devarayan, K. and Kim, B.S., 2015. Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 209, 281-286.

[6] Choi, I., et al., 2017. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food chemistry*, 218, 122-128.

[7] Prietto, L., et al., 2017. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 492-500.

[8] Pourjavaher, S., et al., 2017. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. *Carbohydrate polymers*, 156, 193-201.

[9] Wiczowski, W., et al., 2013. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. *Food research international*, 51(1), 303-309.

[10] Nguyen Ngoc Thang, et al., 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from red cabbage using ethanol solvent. *The Vietnam Mechanical Engineering Journal*, special issue, 103-107.

[11] Giusti, M. and Wrolstad, R. E., 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons.

[12] Ananga, A., et al., 2013. Production of anthocyanins in grape cell cultures: a potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. *The Mediterranean Genetic Code-Grapevine and Olive*, InTech.

[13] Castañeda-Ovando, et al., 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.

[14] Wang, Y.C., Yu, R.C. and Chou, C.C., 2002. Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Food Microbiology*, 19(5), 501-50