الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA**

وزارة التعليـــم العالـــي والبحـــث العلمـــي

**MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH**


**Higher national school of agronomy**

**Department :** food technology and human nutrition

**Specialty:** Food processing and human nutrition

**المدرسة الوطنية العليا للفلاحة**

**القسم :** تكنولوجيا الغذاء والتغذية الانسانية

**تخصص** : إعداد ونوعية الأطعمة والتغذية البشرية


**Thesis Proposal Defense in Partial Fulfilment of Requirements for the Degree of**

**MASTER OF SCIENCE**

**SUBJECT**

# EXTRACTION OF PHYCOCYANIN AND UTILISATION AS A FOOD COLORANT IN A CONFECTIONERY


Presented by: **Abdelmoumene Larbi**

**Zinelabidine Meddas**


Publicly defended in: 19/09/2021

Presented to the Examination Committee:

**President:**

**(Mr) MALEK Amiali** Professor (ENSA, El-Harrach)

**Supervisor:**

**(Ms) AMEL Aouir** Lecturer (ENSA, El-Harrach)

**Examinator:**

**(Ms) AMEL Meribai** Lecturer (ENSA, El-Harrach)

**Promotion 2016/2021**

# *Table of Contents*

Table of Contents ..... a
Acknowledgments ..... c
List of Abbreviations ..... f
List of tables ..... g
List of figures ..... h
List of annexes ..... j
Introduction ..... 1
Literature review ..... 4
1 Spirulina, generalities ..... 1
1.1 History ..... 1
1.2 Classification and Taxonomy ..... 3
1.3 Morphology ..... 5
1.4 Composition and nutritional value ..... 6
1.5 Commercial cultivation of microalgae ..... 7
1.6 Worldwide production and consumption of spirulina ..... 8
2 Phycobiliproteins ..... 9
2.1 Structure of phycobiliproteins ..... 10
2.2 Phycobiliproteins for Nutraceutical and Pharmaceutical Applications ..... 12
2.3 Phycobiliproteins as food additives ..... 13
3 Phycocyanin (C-PC) ..... 15
3.1 Structure of Phycocyanin ..... 15
3.2 Physicochemical properties ..... 17
3.3 Applications of CPC ..... 17
3.4 Extraction of Phycocyanin ..... 18
3.5 Purification of phycocyanin ..... 20
Material and methods ..... 1
2.1 The algal strain ..... 1
2.2 Humidity ..... 1
2.3 Extractions ..... 1

2.3.2 Freezing/thawing extraction ..... 2
2.4 Conservation of phycobiliproteins ..... 4
2.5 Purification of the phycocyanin ..... 5
2.6Freeze-drying ..... 6
2.7 Antioxidant activity ..... 7
2.8 Incorporation of the phycocyanin in a jelly confectionery ..... 7
2.9 Statistical analyses ..... 9
Results and discussion ..... 1
3.1 Humidity ..... 1
3.2 pH of sodium phosphate buffer ..... 1
3.3 Extractions ..... 1
3.3.1 Freezing/Thawing extraction ..... 1
3.3.2 Ultrasound extraction ..... 5
3.3 Solvent extraction ..... 9
3.4 Comparing extraction methods ..... 12
3.5 Conservation of phycobiliproteins ..... 14
3.6 Antioxidant activity ..... 17
3.7 Results of purification of phycocyanin ..... 18
3.8 Incorporation of obtained phycocyanin in a food product ..... 19
CONCLUSION ..... 1
Perspectives ..... 2
REFERENCES ..... 3
Annexes ..... I

## Abstract

The purpose of this work is to optimize the extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis by comparing three extraction methods; freezing/thawing, ultrasound and solvent extraction*. The possibility of incorporating C-PC in a food product (jelly) as a natural dye was tested by using three concentrations of C-PC (200, 400 and 600 mg/ 100 ml) compared to a jelly that contains a synthetic dye. The conservation of phycocyanin was tested through five days where we compared ascorbic acid and salicylic acid.

Ultrasonic extraction is the best method considered in this work, and as parameters, variables and combinations change, the result changes, ultrasound proved to be the most efficient method tested in this work. Using salicylic acid as a conservation agent for phycocyanin is the preferred method to maintain the C-PC amount and the purity, hence, more shelf life. Using the 400mg/100ml concentration of phycocyanin in a jelly candy as a natural dye yields a better result among the tested concentrations, its result was much better than the sample with synthetic dye.

**Keywords:** Spirulina, optimization, phycocyanin, extraction, dye, jelly, food product, conservation.

## Résumé

Le but de ce travail est d'optimiser l'extraction de la phycocyanine de *Spirulina platensis* en comparant trois méthodes d'extraction ; congélation/décongélation, ultrasons et extraction par solvant. La possibilité d'incorporer du C-PC dans un produit alimentaire (gelée) en tant que colorant naturel a été testée en utilisant trois concentrations de C-PC (200, 400 et 600 mg/ 100 ml) par rapport à une gelée contenant un colorant synthétique. La conservation de la phycocyanine a été testée sur cinq jours où nous avons comparé l'acide ascorbique et l'acide salicylique.

L'extraction par ultrasons est la meilleure méthode considérée dans ce travail, et comme les paramètres, les variables et les combinaisons changent, le résultat change, les ultrasons se sont avérés être la méthode la plus efficace testée dans ce travail. L'utilisation d'acide salicylique comme agent de conservation de la phycocyanine est la méthode préférée pour maintenir la quantité de C-PC et la pureté, d'où une durée de conservation plus longue. L'utilisation de la concentration de 400 mg/100 ml de phycocyanine dans un bonbon à la gelée comme colorant naturel donne un meilleur résultat parmi les concentrations testées, son résultat était bien meilleur que l'échantillon avec un colorant synthétique.

**Mots clés :** Spiruline, optimisation, phycocyanine, extraction, colorant, gelée, produit alimentaire, conservation.

**ملخص:** الغرض من هذا العمل هو تحسين استخراج الفيكوسيانين من السبيرولينا وذلك بمقارنة ثلاثة طرق للاستخراج؛ طريقة تجميد/ذوبان، طريقة الموجات فوق الصوتية وطريقة الاستخراج بالمحلول. تم اختبار امكانية دمج الفيكوسيانين في منتج غذائي (هلام) كملون طبيعي وذلك باستخدام التركيزات (200، 400 و600) ومقارنتها بعينة تحتوي ملونا صناعيا. تم اختبار الحفاظ على الفيكوسيانين خلال خمس أيام متتالية حيث استخدمنا حمض الاسكوربيك وحمض الساليسيليك كعاملين حافظين. الاستخراج بتقنية الموجات فوق الصوتية هي أفضل طريقة استخراج بين الطرق المختبرة في هذا العمل، تتغير النتائج بتغيير المتغيرات والعوامل. اثبتت تقنية الموجات فوق الصوتية فعاليتها في استخراج الفيكوسيانين.

استخدام حمض الساليسيليك كعامل حافظ هي أفضل طريقة للحفاظ على كمية الفيكوسيانين ونقائه وبالتالي تمديد مدة تخزينه. استخدام 400 مغ/ 100 مل من الفيكوسيانين كملون غذائي طبيعي داخل منتج غذائي أثبت انه أفضل تركيز تم اختباره في هذا العمل، حتى أنه اثبت تفوقه على الملون الصناعي.

**الكلمات المفتاحية:** سبيرولينا، تحسين، فيكوسيانين، استخلاص، ملون، هلام، منتج غذائي، حفظ.