

<p>18 The Innovation of Technology for Microalgae Cultivation and Its Application in Functional Foods and the Nutraceutical Industry Akira Satoh, Masaharu Ishikura, Nagisa Murakami, Kai Zhang, and Daisuke Sasaki</p> <p>CONTENTS</p> <p>18.1 Introduction 313</p> <p>18.1.1 About Yamaha Motor Co. Ltd 313</p> <p>18.1.2 Some Background on the Research and Development into Microalgal Biotechnology by Yamaha Motor 314</p> <p>18.2 An Overview of Microalgae Mass Culture in Functional Foods and the Nutraceutical Industry 314</p> <p>18.3 Research and Development into the Commercial Production of Microalgae at Yamaha Motor 316</p> <p>18.4 Astaxanthin Raw Material Manufacturing Process 318</p> <p>18.4.1 Outline of the Factory and Manufacturing Process 318</p> <p>18.4.2 Quality Assurance System Under Good Manufacturing Practice Conditions 320</p> <p>18.5 Astaxanthin and its Source, Hematococcus Alga 321</p> <p>18.5.1 Astaxanthin 321</p> <p>18.5.2 Structure and Source of Astaxanthin 322</p> <p>18.5.3 Antioxidative Activity of Astaxanthin 322</p> <p>18.5.4 Haematococcus Algae 322</p> <p>18.6 Benefits of Astaxanthin for Human Health Management 323</p> <p>18.6.1 Astaxanthin and Atopic Dermatitis 323</p>	<p>18: Đổi mới Công nghệ nuôi vi tảo và ứng dụng của nó trong thực phẩm chức năng và Công nghiệp thực phẩm dinh dưỡng</p> <p>Akira Satoh, Masaharu Ishikura, Nagisa Murakami, Zhang Kai, và Daisuke Sasaki</p> <p>MỤC LỤC</p> <p>18,1 Giới thiệu 313</p> <p>18.1.1 Giới thiệu Công ty TNHH Yamaha Motor 313</p> <p>18.1.2 Cơ sở hình thành và phát triển các nghiên cứu công nghệ sinh học vi tảo của Yamaha Motor 314</p> <p>18.2 Tổng quan về Nuôi sinh khối vi tảo trong thực phẩm chức năng và Ngành công nghiệp Thực phẩm dinh dưỡng 314</p> <p>18,3 Nghiên cứu và Phát triển sản xuất thương mại vi tảo tại Yamaha Motor 316</p> <p>18,4 Quy trình sản xuất nguyên liệu thô Astaxanthin 318</p> <p>18.4.1 Tóm tắt về Nhà máy và Quy trình sản xuất 318</p> <p>18.4.2 Hệ thống đảm bảo chất lượng trong điều kiện thực hành sản xuất tốt 320</p> <p>18,5 Astaxanthin và nguồn tạo ra nó, tảo Hematococcus 321</p> <p>18.5.1 Astaxanthin 321</p> <p>18.5.2 Cấu trúc và Nguồn tạo ra astaxanthin 322</p> <p>18.5.3 Hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin 322</p> <p>18.5.4 Tảo Haematococcus 322</p> <p>18,6 Lợi ích của astaxanthin trong việc chăm sóc sức khỏe con người 323</p>
---	--

<p>18.6.2 Astaxanthin and Brain Health 323</p> <p>18.6.3 Astaxanthin and Metabolic Syndrome 324</p> <p>18.7 Concluding Remarks 326</p> <p>Acknowledgment 326</p> <p>References 326</p>	<p>18.6.1 Astaxanthin và bệnh viêm da cơ địa 323</p> <p>18.6.2 Astaxanthin và sức khỏe não 323</p> <p>18.6.3 Astaxanthin và hội chứng chuyển hóa 324</p> <p>18.7 Kết luận 326</p> <p>Lời cảm ơn 326</p> <p>Tài liệu tham khảo 326</p>
<p>18.1 INTRODUCTION</p> <p>18.1.1 ABOUT YAMAHA MOTOR CO. LTD</p> <p>Yamaha Motor Co. Ltd. was a spin-off from its parent musical instrument company, Nippon Gakki Co. Ltd. (now Yamaha Co. Ltd.) and became an independent company in 1955, supplying the latest motorcycles in Shizuoka, Japan. At the time more than 100 motorcycle companies existed in Japan; now only four companies exist, including Yamaha Motor. Yamaha Motor is mainly concerned with manufacturing and supplying motorcycles, marine products, and many other types of power products worldwide. Approximately 90% of its sales come from motorcycles, marine products, and power products: only 10% of all their sales are generated in Japan, the remaining 90% being overseas orders. In 2006, Yamaha Motor Co. Ltd. pioneered a new business concerned with biotechnology, which Yamaha Motor originally developed to provide bulk astaxanthin as a functional food ingredient.</p> <p>18.1.2 SOME BACKGROUND ON THE RESEARCH AND DEVELOPMENT INTO MICROALGAL BIOTECHNOLOGY BY YAMAHA MOTOR</p> <p>In 1997, a meeting was held in Kyoto, Japan,</p>	<p>18,1 GIỚI THIỆU</p> <p>18.1.1 GIỚI THIỆU VỀ CÔNG TY TNHH YAMAHA MOTOR</p> <p>Công ty TNHH Yamaha Motor là một công ti ứng dụng khoa học từ công ty mẹ chuyên về lĩnh vực dụng cụ âm nhạc, Công ty TNHH Nippon Gakki (nay là Công ty TNHH Yamaha) và đã trở thành một công ty độc lập vào năm 1955, cung cấp những chiếc xe mô tô (xe máy) mới nhất ở Shizuoka, Nhật Bản. Vào thời điểm đó, hơn 100 công ty sản xuất mô tô tồn tại ở Nhật Bản, bây giờ chỉ còn bốn công ty tồn tại, trong đó có Yamaha Motor. Yamaha Motor chủ yếu quan tâm đến việc sản xuất và cung cấp xe mô tô (xe máy), sản phẩm biển, và nhiều loại thiết bị điện khác nhau trên toàn thế giới. Khoảng 90% doanh thu của công ti đến từ xe máy, sản phẩm biển, và các thiết bị điện: chỉ có 10% doanh số bán hàng của họ được tạo ra ở Nhật Bản, 90% còn lại là các đơn đặt hàng ở nước ngoài. Vào năm 2006, Công ty TNHH Yamaha Motor đi tiên phong trong lĩnh vực kinh doanh mới liên quan đến công nghệ sinh học, mà Yamaha Motor bước đầu phát triển để cung cấp số lượng lớn astaxanthin dùng làm một thành phần của thực phẩm chức năng.</p> <p>18.1.2 CƠ SỞ HÌNH THÀNH VÀ PHÁT TRIỂN HƯỚNG NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC VI TẢO CỦA YAMAHA MOTOR</p>

to discuss the international convention on the stabilization of greenhouse gas concentration in the atmosphere. At the meeting, many advanced countries agreed to reduce the emissions of six greenhouse gases, including CO<sub>2</sub>. In Japan, the Kyoto meeting was considered very important for many people and companies, alerting them to the effects of global warming. Environmental issues concerning global warming set Yamaha Motor on the road to researching and developing carbon dioxide reduction and fixation technology. In addition, they began to develop environmentally friendly power products, such as lower CO<sub>2</sub> emission engines and fuel cells. Yamaha Motor became interested in the biofixation of CO<sub>2</sub> using algal photosynthesis, which has a CO<sub>2</sub>-fixing capability far superior to that of higher plants. In the creation of an efficient biofixation system based on microalgae mass culture, Yamaha Motor began developing new conceptual photobioreactors using fluid dynamics technology that was previously utilized in the field of marine products (see Section 18.3 for details). Throughout the research, they accumulated specific technology for microalgae mass cultivation, including several photobioreactors in which each microalgal cell could be supplied with adequate light photons, dissolved CO<sub>2</sub>, and the nutrients required for maximum photosynthesis. The successful development of high-density mass cultivation technology led them to a further challenge in microalgal biomass production, producing astaxanthin on a commercial scale as a functional foods for the nutraceutical industry.

Năm 1997, một cuộc họp được tổ chức tại Kyoto, Nhật Bản, để thảo luận về các quy ước quốc tế trong việc ổn định hóa nồng độ khí nhà kính trong bầu khí quyển. Tại cuộc họp, nhiều nước tiên tiến đồng ý cắt giảm phát thải 6 loại khí nhà kính, bao gồm cả CO<sub>2</sub>. Tại Nhật Bản, cuộc họp Kyoto được xem là rất quan trọng đối với nhiều người dân và các công ty, cảnh báo những tác động của sự nóng lên toàn cầu. Vấn đề môi trường liên quan đến sự nóng lên toàn cầu đặt ra cho Yamaha Motor một hướng nghiên cứu và phát triển công nghệ để làm giảm và cố định lượng khí carbon dioxide. Ngoài ra, họ cũng bắt đầu phát triển các sản phẩm năng lượng thân thiện với môi trường, chẳng hạn như các động cơ thải CO<sub>2</sub> thấp hơn và các pin mặt trời. Yamaha Motor đã quan tâm đến việc giữ cho lượng khí CO<sub>2</sub> không đổi bằng cách sử dụng hiện tượng quang hợp của tảo, có khả năng cố định lượng CO<sub>2</sub> cao hơn nhiều so với các thực vật bậc cao. Trong quá trình tạo ra hệ ổn định sinh học hiệu quả dựa trên nuôi sinh khối vi tảo, Yamaha Motor bắt đầu phát triển các thiết bị phản ứng quang sinh học mới bằng cách sử dụng công nghệ động lực chất lỏng đã được sử dụng trong lĩnh vực thủy hải sản (xem mục 18.3 để biết thêm chi tiết). Trong quá trình nghiên cứu, họ đã tích lũy công nghệ chuyên biệt cho việc nuôi sinh khối vi tảo, bao gồm cả một số Thiết bị phản ứng quang sinh học trong đó mỗi ô (tế bào) vi tảo được nuôi bằng các photon ánh sáng thích hợp, hòa tan CO<sub>2</sub> và các chất dinh dưỡng cần thiết tối đa hóa quá trình quang hợp. Việc phát triển thành công công nghệ nuôi hàng loạt mật độ cao làm cho họ có thêm cơ hội trong việc sản xuất sinh khối vi tảo, sản xuất astaxanthin trên quy mô thương mại với tư cách là một loại thực phẩm chức năng cho ngành công nghiệp thực phẩm dinh dưỡng.

## 18.2 AN OVERVIEW OF MICROALGAE MASS CULTURE IN FUNCTIONAL FOODS AND THE NUTRACEUTICAL INDUSTRY

Microalgae, including cyanobacteria, are microscopic photoautotrophs in which inorganic compounds and sunlight energy are converted into biomass. Applied research on algal culture and biomass began in the late 1940s (Burlew, 1953). This research included alternative and unconventional protein sources, photosynthetic gas exchange for space travel, aquaculture feed, wastewater treatment, renewable energy sources, biological fixation of greenhouse CO<sub>2</sub>, and production of recombinant biopharmaceuticals (Borowitzka, 1995; Becker, 2004; Spolare et al., 2006; Eriksen, 2008). It was discovered that microalgae synthesize a variety of valuable substances, including carbohydrates, lipids, vitamins, pigments, and other biological active compounds (Borowitzka, 1995; Becker, 2004; Pulz and Gross, 2004; Spolare et al., 2006; Cardozo et al., 2007). Microalgal cultivation technology and its subsequent biomass and products have received much research attention in the last 5-6 decades due to their potential as possible commodities and other industrial applications. However, only a limited number of microalgae have been found suitable to produce competitively priced products for use in functional foods and the nutraceutical industry (Vonshak, 1990; Borowitzka, 1999; Ben-Amotz, 2004; Cysewski and Lorenz, 2004; Hu, 2004; Iwamoto, 2004; Pulz and Gross, 2004; Spolaore et al., 2006).

These include: *Chlorella*, mainly cultured in Japan, Taiwan, and Germany, with an annual production of 2000 tons dry weight;

## 18,2 TỔNG QUAN VỀ NUÔI SINH KHỐI VI TẢO TRONG THỰC PHẨM CHỨC NĂNG VÀ CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM DINH DƯỠNG

Vi tảo, bao gồm cả vi khuẩn cyanobacteria, là các hệ thống quang dị dưỡng vi mô trong đó các hợp chất vô cơ và năng lượng ánh sáng mặt trời sẽ được chuyển đổi thành sinh khối. Nghiên cứu ứng dụng về việc nuôi tảo và sinh khối bắt đầu vào cuối những năm 1940 (Burlew, 1953). Nghiên cứu này liên quan đến các nguồn protein thay thế và độc đáo, trao đổi khí quang hợp khi chuyển động trong không gian, thực phẩm thủy sản, xử lý nước thải, các nguồn năng lượng tái tạo, cố định sinh học khí CO<sub>2</sub> hiệu ứng nhà kính, và sản xuất dược phẩm sinh học tái tổ hợp (Borowitzka năm 1995, Becker, 2004, Spolare và các cộng sự, 2006; Eriksen, 2008). Người ta đã phát hiện ra rằng vi tảo tổng hợp một loạt các chất có giá trị, bao gồm carbohydrates, chất béo, vitamin, chất màu, và các hợp chất có hoạt tính sinh học khác (Borowitzka, năm 1995; Becker, 2004; Pulz và Gross, 2004; Spolare và các cộng sự, 2006; Cardozo và các cộng sự, 2007). Công nghệ nuôi vi tảo và sau đó là sinh khối của nó và các sản phẩm đã được tập trung nghiên cứu rất nhiều trong 5-6 thập kỷ qua do tiềm năng của chúng với tư cách là các sản phẩm thương mại, và các ứng dụng công nghiệp khác. Tuy nhiên, người ta thấy rằng chỉ có một số lượng hạn chế vi tảo phù hợp để sản xuất các sản phẩm giá cả cạnh tranh để sử dụng trong thực phẩm chức năng và ngành công nghiệp thực phẩm dinh dưỡng (Vonshak, 1990; Borowitzka năm 1999; Ben-Amotz, 2004; Cysewski và Lorenz, 2004; Hu năm 2004 Iwamoto, 2004; Pulz và Gross, 2004; Spolaore và các cộng sự, 2006). Chúng bao gồm: *Chlorella*, chủ yếu được nuôi ở Nhật Bản, Đài Loan, và Đức, với

Arthrospira (Spirulina) and Aphanizomenon flos-aquae, mainly cultured in China, India, USA, and Japan, with an annual production of 3000 and 500 tons dry weight, respectively; Dunaliella, mainly cultured in Australia, Israel, and the United States, with an annual production of 1200 tons dry weight and which is used as a source of P-carotene; Haematococcus, mainly cultured in the United States, Israel, Sweden, and Japan, with an annual production of 300 tons dry weight, used as a source of astaxanthin; Cryptocodinium and Schizochytrium, mainly cultured heterotrophically in the United States, with an annual production of 240 and 10 tons, respectively, used as a source of docosaheptaenoic acid (DHA).

The bottleneck of the microalgal business is price competitiveness, and this depends on difficulties with microalgal cultivation. These problems are derived from the growth and metabolic characteristics of a selected strain (e.g., growth rate, cellular content of a target product, optimum conditions, and stress tolerance), the culture system used (ponds and photobioreactors), and the sustainability of the culture and hence target product (e.g., contamination risks, productivity, quality, and seasonal effects). Before discussing the commercial production of microalgae at Yamaha Motor, details of the technology and problems are briefly mentioned. For further details on microalgae, culture systems, and their advantages and problems, readers are referred to the book edited by Richmond (2004) and reviews by Borowitzka (1999), Lee (2001), Pulz (2001), and Tredici (2004).

Commercial cultivation of microalgae is

sản lượng hàng năm là 2000 tấn trọng lượng khô; Arthrospira (Spirulina) và flos-aquae Aphanizomenon, chủ yếu nuôi ở Trung Quốc, Ấn Độ, Mỹ, và Nhật Bản, với sản lượng hàng năm 3000 và 500 tấn trọng lượng khô, tương ứng; Dunaliella, chủ yếu được nuôi ở Úc, Israel và Hoa Kỳ, với sản lượng hàng năm 1200 tấn trọng lượng khô và được sử dụng như một nguồn P-carotene; Haematococcus, chủ yếu được nuôi ở Hoa Kỳ, Israel, Thụy Điển, và Nhật Bản, với sản lượng hàng năm 300 tấn trọng lượng khô, được sử dụng như một nguồn astaxanthin; Cryptocodinium và Schizochytrium, chủ yếu được nuôi dị dưỡng tại Hoa Kỳ, với sản lượng hàng năm tương ứng là 240 và 10 tấn, được sử dụng như là một nguồn axit docosaheptaenoic (axit alpha-linolenic, DHA).

Trở ngại trong việc kinh doanh vi tảo là sự cạnh tranh về giá cả, và điều này phụ thuộc vào những khó khăn trong việc nuôi vi tảo. Những vấn đề này xuất phát từ những đặc điểm tăng trưởng và trao đổi chất của một dòng được chọn (ví dụ, tốc độ tăng trưởng, hàm lượng tế bào của sản phẩm mục tiêu, điều kiện tối ưu, và khả năng chống chịu stress), hệ thống nuôi được sử dụng (ao và thiết bị phản ứng quang sinh học), và tính bền vững của sản phẩm nuôi và sản phẩm cuối cùng (ví dụ, nguy cơ ô nhiễm, năng suất, chất lượng, và các hiệu ứng theo mùa). Trước khi thảo luận về việc sản xuất thương mại vi tảo tại Yamaha Motor, chi tiết về công nghệ và các khó khăn được đề cập ngắn gọn. Để có thêm thông tin chi tiết về vi tảo, các hệ thống nuôi, những thuận lợi và khó khăn của chúng, độc giả có thể tham khảo quyển sách của Richmond (2004) và các tổng quan của Borowitzka (1999), Lee (2001), Pulz (2001), và Tredici (2004).

mainly performed under outdoor conditions using open-air systems (circular and raceway ponds) and natural sunlight, due simply to the economics of production. One of the major problems with open-air systems of outdoor cultures is contamination risk, that is, difficulties in maintaining a monoalgal culture (species control) and prevention of bacterial and/or protozoal overgrowth (sterility). An extreme culture environment is therefore necessary to reduce the contamination risk, and a major reason why only a limited number of microalgae have been successfully mass cultured under outdoor conditions using open-air systems and marketed commercially. Examples include, *Dunaliella*, which requires high saline culture conditions, *Spirulina*, which requires high alkaline conditions, and *Chlorella*, which grows well in nutrient-rich media.

Another major technical problem affecting sustainable productivity in microalgal cultures is the difficulty of supplying an adequate amount of light to each algal cell. Light irradiation reaching the surface of the culture is decreased by increasing either the distance from the surface or the cell density, due to mutual shading, leading to limited light energy for algal growth. In open-air systems, therefore, pond depth must be less than 50 cm and cell density at harvest is low (less than 0.6 g dry weight/L) and therefore a very large culture area is required for commercial-scale production of algal biomass—hundreds of hectares, provided by a number of ponds, each stretching to 1000 m<sup>2</sup>. Mixing, temperature and gas transfer are also important factors for algal growth, but these factors are difficult to control in open-air systems.

Microalgal culture technology has developed a

Việc sản xuất thương mại vi tảo được thực hiện chủ yếu trong điều kiện ngoài trời bằng cách sử dụng hệ thống khí hồ (các ao tròn và kênh dẫn nước) và ánh sáng mặt trời tự nhiên, đơn giản là do tính kinh tế của quy trình sản xuất. Một trong những khó khăn lớn với hệ thống khí hồ của phương pháp nuôi ngoài trời là nguy cơ ô nhiễm, tức là, những khó khăn trong việc duy trì nuôi đơn tảo (kiểm soát chủng loại) và ngăn chặn sự phát triển quá mức của vi khuẩn và / hoặc động vật nguyên sinh (vô trùng). Vì vậy, một môi trường nuôi tốt rất cần thiết để giảm nguy cơ ô nhiễm, và đó cũng là lí do chính giải thích vì sao chỉ có một số lượng hạn chế vi tảo được nuôi thành công trong điều kiện ngoài trời bằng hệ thống khí hồ và được thương mại hóa. Các ví dụ bao gồm *Dunaliella*, đòi hỏi điều kiện nuôi có độ mặn cao, *Spirulina*, đòi hỏi điều kiện kiềm cao, và *Chlorella*, phát triển tốt trong các môi trường giàu chất dinh dưỡng.

Một vấn đề kỹ thuật quan trọng khác ảnh hưởng đến năng suất bền vững trong nuôi vi tảo là khó khăn trong việc cung cấp một số lượng ánh sáng đầy đủ cho mỗi ô (tế bào) tảo. Bức xạ ánh sáng đến bề mặt nuôi bị giảm do tăng khoảng cách từ bề mặt hoặc mật độ ô, do sự che lẫn nhau, dẫn đến năng lượng ánh sáng hạn chế cho sự phát triển tảo. Do đó, trong các hệ thống ngoài trời, độ sâu của bể phải nhỏ hơn 50 cm và mật độ ô lúc thu hoạch thấp (ít hơn 0.6 g trọng lượng khô / L) và do đó chúng ta phải cần một diện tích nuôi rất lớn để sản xuất sinh khối vi tảo ở quy mô thương mại - hàng trăm ha, được cung cấp bởi một số ao, mỗi ao kéo dài đến 1000 m<sup>2</sup>. Sự pha trộn, nhiệt độ và sự trao đổi khí cũng là yếu tố quan trọng cho sự phát triển của tảo, nhưng những yếu tố này khó kiểm soát trong hệ thống khí hồ.

Công Nghệ nuôi vi tảo đã phát triển một hệ

closed system using a photobioreactor to overcome the problems discussed above, especially contamination risk and light limitation, and consequently to achieve higher cell density. In typical photobioreactors, a series of transparent tubes, flat plate chambers, cylinders, or sleeves are positioned vertically, horizontally, coiled, or at a desired angle. Mixing and temperature control are also improved in comparison with open-air systems. An optical path in the photobioreactor is a precise parameter which can be altered through the diameter of tube or thickness of the chamber, to control algal growth and productivity in photoautotrophic cultures. In general, a shorter optical path produces a higher cell density, while culture volume per reactor decreases, resulting in a larger surface area-to-volume ratio. The high cost of bioreactors and difficulties in scale-up are the two bottlenecks of photobioreactors, which limits successful use of commercial scale photobioreactors in the microalgal business (Tredici, 2004).

Both ponds and outdoor photobioreactors have been used for autotrophic cultivation of *Haematococcus pluvialis*, used in astaxanthin production (Olaizola and Huntley, 2003; Cysewski and Lorenz, 2004; Del Campo et al., 2007). Constant irradiation of sufficiently high light and temperature control are required, since light intensity and temperature are the most critical factors affecting the growth of *H. pluvialis* and astaxanthin accumulation (Margalith, 1999). In addition, sterility is a severe problem in the cultivation of *Haematococcus*, compared with other successfully mass-cultured algae (*Dunaliella*, *Spirulina*, and *Chlorella*), since no selective

thống khép kín bằng cách sử dụng một thiết bị phản ứng quang sinh học để khắc phục những vấn đề đã nói ở trên, đặc biệt là nguy cơ ô nhiễm và ánh sáng hạn chế (ít, không đủ), và do đó để đạt được mật độ ô cao hơn. Trong các thiết bị phản ứng quang sinh học điển hình, một loạt các ống trong suốt, các buồng tấm phẳng, hình trụ, hoặc các ống bọc ngoài được đặt theo chiều dọc, chiều ngang, cuộn, hoặc ở một góc mong muốn. Trộn và kiểm soát nhiệt độ cũng được cải thiện so với các hệ thống ngoài trời. Đường đi của tia sáng (quang lộ) trong thiết bị phản ứng quang sinh học là một tham số chính xác có thể được thay đổi qua đường kính của ống hoặc chiều dày của buồng, để kiểm soát sự phát triển của tảo và năng suất trong nuôi quang tự dưỡng. Nói chung, quang lộ càng ngắn tạo ra mật độ ô càng cao hơn, trong khi thể tích nuôi trên một buồng phản ứng giảm, dẫn đến tỷ số diện tích bề mặt trên thể tích lớn hơn. Chi phí cao của lò phản ứng quang sinh học và những khó khăn trong nuôi quy mô lớn là các khó khăn của thiết bị phản ứng quang sinh học, hạn chế việc sử dụng thành công các thiết bị phản ứng quang sinh học quy mô thương mại trong kinh doanh vi tảo (Tredici, 2004).

Cả bể và thiết bị phản ứng quang sinh học ngoài trời đã được sử dụng để nuôi tự dưỡng *Haematococcus pluvialis*, được sử dụng trong việc sản xuất astaxanthin (Olaizola và Huntley, 2003; Cysewski và Lorenz, 2004; Del Campo và các cộng sự, 2007). Chiếu xạ liên tục nguồn ánh sáng đủ cao và kiểm soát nhiệt độ là cần thiết, bởi vì cường độ ánh sáng và nhiệt độ là các yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của *H. pluvialis* và sự tích lũy astaxanthin (Margalith, 1999). Ngoài ra, vô trùng là một vấn đề quan trọng trong việc nuôi *Haematococcus*, so với tảo được nuôi sinh khối

culture environment to prevent bacterial and/or protozoal overgrowth is currently available for this alga (Margalith, 1999). A culturing technology which enables both increased astaxanthin production and sterile culture conditions is required.

An indoor cultivation system has recently been developed to manufacture an astaxanthin-containing *H. pluvialis* algal biomass, namely the "YAMAHA High-efficiency Photobioreactor." The development of this high-efficiency photobioreactor is described in the next section.

### 18.3 RESEARCH AND DEVELOPMENT INTO THE COMMERCIAL PRODUCTION OF MICROALGAE AT YAMAHA MOTOR

As described in Section 18.1.2, Yamaha Motor became engaged in the development of outdoor photobioreactors for the biofixation of CO<sub>2</sub> using algal photosynthesis. In order to achieve high-density algal cultures with high photosynthetic activity, we at Yamaha Motor focused on the "flashing light effect," also called "intermittent illumination," which had been reported to be a means of utilizing a larger fraction of the sunlight shining on a given area (Emerson and Arnold, 1932; Weller and Franck, 1941; Rieke and Gaffron, 1942; Tamiya and Chiba, 1949; Kok, 1953). The "flashing light effect" is a situation in which cells in a high-density culture are exposed to light and dark periods in turn at high frequencies by mixing.

Cell mixing in a reactor was found to be very important but it was suggested that mixing

thành công khác (*Dunaliella*, *Spirulina* và *Chlorella*), vì không cần phải chọn lựa môi trường để ngăn chặn sự phát triển quá mức của vi khuẩn và / hoặc động vật nguyên sinh hiện có cho tảo này (Margalith, 1999). Một công nghệ nuôi cho phép tăng sản lượng astaxanthin và điều kiện nuôi vô trùng là cần thiết.

Gần đây, một hệ thống nuôi trong nhà đã được phát triển để sản xuất astaxanthin chứa sinh khối tảo *H. pluvialis*, cụ thể là "Thiết bị phản ứng quang sinh học hiệu suất cao YAMAHA." Sự phát triển của thiết bị phản ứng quang sinh học hiệu suất cao này được mô tả trong phần tiếp theo.

### 18.3 NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN SẢN XUẤT THƯƠNG MẠI VI TẢO TẠI YAMAHA MOTOR

Như mô tả trong mục 18.1.2, Yamaha Motor đã tiến hành phát triển các thiết bị phản ứng quang sinh học ngoài trời để ổn định sinh học lượng CO<sub>2</sub> bằng cách sử dụng hiện tượng quang hợp của tảo. Để đạt được mục tiêu nuôi tảo hiệu suất cao với hoạt tính quang hợp cao, tại Yamaha Motor chúng tôi tập trung vào "hiệu ứng ánh sáng nhấp nháy", còn được gọi là "chiếu sáng gián đoạn" đã được báo cáo là một phương pháp có thể tận dụng được một phần lớn hơn của ánh sáng mặt trời chiếu sáng trên một vùng nhất định (Emerson và Arnold, 1932; Weller và Franck, 1941; Rieke và Gaffron năm 1942; Tamiya và Chiba, 1949; Kok, 1953). "Hiệu ứng ánh sáng nhấp nháy" là một hiện tượng trong đó các ô trong hệ nuôi mật độ cao lần lượt được phô sáng và tối ở các tần số cao bằng cách trộn. Sự trộn ô trong lò phản ứng được xem là rất quan trọng nhưng chúng ta cũng dễ thấy rằng hiệu suất pha trộn sẽ phụ thuộc vào hình dạng lò phản ứng. Là



performance would depend on the shape of the reactor. As a novel approach to the design and screening of photobioreactors, we applied computational fluid dynamics to analyze the mixing performance of various shapes of photobioreactor (Sato et al., 2002, 2005; Tomita et al., 2005a, 2005b).

In these studies, we made several types of photobioreactor including dome-, parabola-, pipe-, and diamond-type. Side views of the dome- and pipe-type photobioreactors are shown in Figure 18.1. These photobioreactors were then evaluated in terms of light reception, global mixing, and local mixing, followed by an evaluation of algal biomass productivity using *Chlorococcum littorale*, which is regarded as an extremely high-CO<sub>2</sub> tolerant algal strain, suitable for high-density culture (Kodama et al., 1993). A computational fluid dynamics analysis of the pipe-type photobioreactor is shown in Figure 18.2. This shape of bioreactor was found to be the best at light reception and biomass productivity: 20.5 g/m<sup>2</sup>/day in dry weight was observed during winter days in Japan. This pipe-type photobioreactor was then applied to the outdoor cultivation of *Chaetoceros calcitrans*,

.....  
.....

FIGURE 18.1 The side view of a dome-type (a) and pipe-type (b) photobioreactor at Yamaha Motor.  
a valuable algal strain widely used as a feed in marine hatcheries. A biomass productivity of

một phương pháp mới trong việc thiết kế và kiểm tra các Thiết bị phản ứng quang sinh học, chúng tôi áp dụng động lực học chất lỏng tính toán để phân tích hiệu suất pha trộn của các thiết bị phản ứng quang sinh học hình dạng khác nhau (Sato và các cộng sự, 2002, 2005;. Tomita và các cộng sự, 2005a, 2005b).

Trong các nghiên cứu này, chúng tôi đã tạo ra một số loại thiết bị phản ứng quang sinh học bao gồm vòm, parabol, ống, và kim cương. Ảnh mặt bên của các thiết bị phản ứng quang sinh học loại vòm và ống được biểu diễn trong hình 18.1. Sau đó, những Thiết bị phản ứng quang sinh học này được đánh giá khả năng tiếp nhận ánh sáng, sự pha trộn toàn cục, và pha trộn cục bộ, rồi được đánh giá năng suất tạo sinh khối vi tảo bằng cách sử dụng *Chlorococcum littorale*, được xem là một dòng tảo có khả năng chịu được CO<sub>2</sub> cực kỳ cao, phù hợp với việc nuôi mật độ cao (Kodama và các cộng sự, 1993). Việc phân tích động học chất lỏng tính toán của thiết bị phản ứng quang sinh học dạng ống được biểu diễn trong hình 18.2. Thiết bị phản ứng sinh học hình dạng này có khả năng hấp thụ ánh sáng và năng suất tạo sinh khối rất cao: 20,5 g trọng lượng khô /m<sup>2</sup>/ngày trong những ngày mùa đông tại Nhật Bản. Sau đó, các thiết bị phản ứng quang sinh học này được áp dụng vào việc nuôi ngoài trời *Chaetoceros calcitrans* (tảo silic nước mặn),

.....  
.....

Hình 18,1 Ảnh mặt bên của thiết bị phản ứng quang sinh học loại mái vòm (a) và ống (b) tại Yamaha Motor.

một dòng tảo có giá trị được sử dụng rộng rãi như thức ăn trong trại sản xuất giống biển. Người ta đã quan sát được năng suất tạo sinh

37.3 g/m<sup>2</sup>/day was observed for *Chaetoceros calcitrans*. The culture volume of the pipe-type photobioreactor could be increased up to approximately 200 L. In addition, the simultaneous use of artificial light and sunlight to increase algal productivity was made possible by inserting fluorescent lamps into the inner cavity, since the space could be sealed completely after the insertion of lamps to prevent rainwater invasion. However, further enlargement of the reactors was not possible due to the strength of the structural material and difficulties in cleanup and sterilization. The pipetype photobioreactor is therefore applicable for small-scale on-site production of live microalgae for aquaculture feeds and we have indeed marketed live *Chaetoceros calcitrans* cells since 2002 (Yamauchi, 2003).

Our next R&D project was mass cultivation of *H. pluvialis* for production of a more valuable compound, astaxanthin. Due to the scale-up problems of the pipe-type photobioreactor, we decided to use a vertical flat-plate-type reactor for this project, since previous research had shown this type of reactor to have excellent light illumination efficiency, leading to superior algal growth (Zhang et al., 2001). Our first efforts involved outdoor cultivation of *H. pluvialis* (Figure 18.3), however, as described in the previous section, bacterial and/or protozoal overgrowth was a severe problem due to the lack of a selective culture environment.

In addition, biomass productivity and astaxanthin yield were very unstable and depended on weather conditions and seasonal

khối của *Chaetoceros calcitrans* là 37,3 g/m<sup>2</sup>/ngày. Thể tích nuôi của thiết bị phản ứng quang sinh học dạng ống có thể tăng lên đến khoảng 200 L. Ngoài ra, việc sử dụng đồng thời ánh sáng nhân tạo và ánh sáng mặt trời để tăng năng suất tạo được thực hiện bằng cách chèn các bóng đèn huỳnh quang vào khoang bên trong, bởi vì các khoảng trống có thể được hàn hoàn toàn sau khi chèn các đèn vào để ngăn nước mưa. Tuy nhiên, việc mở rộng thêm các thiết bị phản ứng là không thể do ứng suất của vật liệu có cấu trúc và những khó khăn để làm sạch và khử trùng. Do đó, thiết bị phản ứng quang sinh học dạng ống có thể áp dụng cho quá trình sản xuất tại chỗ quy mô nhỏ vì tạo sống làm thức ăn phục vụ cho nuôi trồng thủy sản và thực sự chúng tôi đã thương mại hóa các ô *Chaetoceros calcitrans* sống kể từ năm 2002 (Yamauchi, 2003).

Dự án R & D tiếp theo của chúng tôi là nuôi sinh khối *H. pluvialis* để sản xuất một hợp chất có giá trị hơn, astaxanthin. Do các những khó khăn trong vấn đề thiết kế quy mô lớn của thiết bị phản ứng quang sinh học dạng ống, chúng tôi quyết định sử dụng một thiết bị phản ứng dạng tấm phẳng thẳng đứng cho dự án này, bởi vì nghiên cứu trước đây đã chứng tỏ rằng loại lò phản ứng này có hiệu suất chiếu sáng tuyệt vời, dẫn đến sự tăng trưởng tốt (Zhang và các cộng sự., 2001). Nỗ lực đầu tiên của chúng tôi liên quan đến nuôi ngoài trời *H. pluvialis* (hình 18,3), tuy nhiên, như đã mô tả trong phần trước, sự phát triển quá mức của vi khuẩn và / hoặc động vật nguyên sinh là một vấn đề nghiêm trọng do thiếu một môi trường nuôi có chọn lọc. Ngoài ra, năng suất tạo sinh khối và sản lượng astaxanthin không ổn định và phụ thuộc vào điều kiện thời tiết và thay đổi theo mùa, bởi vì sự tăng trưởng của tảo và sự tích lũy astaxanthin chịu ảnh hưởng lớn bởi ánh

differences, since algal growth and astaxanthin accumulation are greatly influenced by light availability and temperature (see Section 18.2). In order to establish a stable industrial manufacturing process, we moved to indoor cultivation using artificial lights, and this resulted in the development of the “YAMAHA High-efficiency Photobioreactor.”

High-quality and high-quantity astaxanthin-containing algal oil have thus been produced since October 2006, and the manufacturing process was given a health food raw material Good Manufacturing Practice (GMP) certification. Details of our manufacturing process (GMP approved) are described in the next section.

.....  
.....  
.....

FIGURE 18.3 An outdoor vertical flat-plate-type photobioreactor at Yamaha Motor, used in the cultivation of *H. pluvialis*.

#### 18.4 ASTAXANTHIN RAW MATERIAL MANUFACTURING PROCESS

##### 18.4.1 OUTLINE OF THE FACTORY AND MANUFACTURING PROCESS

A factory dedicated to the manufacture of astaxanthin raw material (astaxanthin-containing dried algal powder of *H. pluvialis*), namely the “Fukuroi Factory II,” was completed in October 2006 as the first and only factory capable of producing the raw material in Japan. The proprietary indoor cultivation system, demonstrating practical use of a number of the “YAMAHA High-efficiency Photobioreactors” is the main production facility (Figure 18.4). This facility

sáng có sẵn và nhiệt độ (xem Phần 18,2). Để thiết lập một quá trình sản xuất công nghiệp ổn định, chúng tôi chuyển sang nuôi trong nhà bằng cách sử dụng ánh sáng nhân tạo, và điều này dẫn đến sự phát triển của "Thiết bị phản ứng quang sinh học hiệu suất cao YAMAHA".

Do đó, Astaxanthin chất lượng cao và số lượng cao chứa dầu tảo đã được sản xuất kể từ tháng 10 năm 2006, và quy trình sản xuất nguyên liệu thô phục vụ cho sản xuất các loại thực phẩm có lợi cho sức khỏe đã nhận được giấy chứng nhận Thực hành sản xuất tốt (GMP). Thông tin chi tiết về quá trình sản xuất của chúng tôi (đã được GMP phê duyệt) được mô tả trong phần tiếp theo.

.....  
.....

Hình 18,3 Thiết bị phản ứng quang sinh học dạng tấm phẳng thẳng đứng tại Yamaha Motor, được sử dụng trong việc nuôi *H. pluvialis*.

#### 18,4 QUY TRÌNH SẢN XUẤT NGUYÊN LIỆU THÔ ASTAXANTHIN

##### 18.4.1 TÓM TẮT VỀ NHÀ MÁY VÀ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT

Một nhà máy chuyên sản xuất các nguyên liệu thô astaxanthin (astaxanthin có chứa bột tảo khô của *H. pluvialis*), cụ thể là "Nhà máy Fukuroi II", được hoàn thành vào tháng 10 năm 2006 là nhà máy đầu tiên và duy nhất có khả năng sản xuất nguyên liệu thô ở Nhật Bản. Hệ thống nuôi trong nhà độc quyền, minh chứng cho việc sử dụng một số "thiết bị phản ứng quang sinh học hiệu suất cao YAMAHA" là cơ sở sản xuất chính (hình 18,4). Cơ sở này hoạt động theo

Hình 18,4 Hệ thống nuôi trong nhà được gọi là

<p>is operated in an</p> <p>FIGURE 18.4 The indoor cultivation system known as the “YAMAHA High-efficiency Photobioreactor” in the Fukuroi Factory II. unattended manner at night, enabling highly controlled batch cultures under continuous illumination, with lower labor costs. The factory is located on a site of approximately 37,000 m<sup>2</sup> in the Kuno Industrial Park of Fukuroi city, Shizuoka prefecture. The building area is approximately 1800 m<sup>2</sup>, with 3300 m<sup>2</sup> total floor space. At present, the production capability is approximately 20 tons of dried algal powder per year, however, the factory is designed as a unit of standardized equipment, making it possible to increase the production capability easily and quickly in response to market expansion by increasing the number of units required.</p> <p>The manufacturing process consists of several steps before shipment: cultivation, separation, drying, packaging, and quality inspection (Figure 18.5a). The process is entirely optimized under the concept of “manufacturing high-quality and safe products.” Briefly, at the cultivation step, the bioreactors are continuously illuminated with optimized synthetic light during a culture period and maintained at the desired temperature to maximize astaxanthin accumulation in algal cells. The quality of water is also carefully considered for optimum astaxanthin production. In order to minimize the risk of contamination, the reactors are isolated in a class 100,000 clean room (Figure 18.4); the cultivation and all operations are performed in the same or a more strictly controlled environment under sanitary quality control. Great care is also taken in the system design and operations at</p>	<p>"Thiết bị phản ứng quang sinh học hiệu suất cao YAMAHA" trong Nhà máy Fukuroi II.</p> <p>Kiểu không giám sát vào ban đêm, tạo điều kiện cho việc nuôi hàng loạt có điều khiển cao trong điều kiện chiếu sáng liên tục, với chi phí lao động thấp. Nhà máy được đặt trên một diện tích khoảng 37.000 m<sup>2</sup> tại Khu công nghiệp Kuno Park của thành phố Fukuroi, tỉnh Shizuoka. Diện tích xây dựng khoảng 1800 m<sup>2</sup>, với tổng diện tích nền 3300 m<sup>2</sup>. Hiện nay, nhà máy có khả năng sản xuất khoảng 20 tấn bột tảo khô mỗi năm, tuy nhiên, nhà máy được thiết kế như một bộ phận với thiết bị tiêu chuẩn hóa, làm cho nó có thể tăng năng suất một cách dễ dàng và nhanh chóng để đáp ứng việc mở rộng thị trường bằng cách tăng số lượng đơn vị cần thiết.</p> <p>Quy trình sản xuất trước khi xuất hàng bao gồm một số bước: nuôi, tách, sấy khô, đóng gói và kiểm tra chất lượng (hình 18.5a). Quá trình này được tối ưu hóa hoàn toàn theo khái niệm "sản xuất các sản phẩm chất lượng cao và an toàn." Tóm lại, ở bước nuôi cấy, các lò phản ứng sinh học liên tục được chiếu sáng với ánh sáng tổng hợp tối ưu trong thời gian nuôi và duy trì ở nhiệt độ mong muốn để tối đa hóa sự tích lũy astaxanthin trong các tế bào tảo. Chất lượng nước cũng được xem xét một cách cẩn thận để sản xuất astaxanthin tối ưu. Để giảm thiểu nguy cơ ô nhiễm, các lò phản ứng được cô lập trong một phòng sạch 100.000 lớp (hình 18,4), việc nuôi và tất cả các hoạt động được thực hiện trong cùng một môi trường hoặc môi trường được kiểm soát nghiêm ngặt hơn dưới sự kiểm soát chất lượng vệ sinh. Trong quá trình thiết kế hệ thống và hoạt động, người ta quan tâm nhiều đến các yếu tố</p> <p>Dầu Astaxanthin</p>
--	--

<p>Astaxanthin oil Shipping inspection Packaging Concentration Extraction Shipping inspection Packaging Drying Separation Cultivation</p> <p>FIGURE 18.5 A production flow scheme for astaxanthin raw material production (a) and subsequent astaxanthin-containing <i>H. pluvialis</i> oil (b).subsequent steps of harvesting the algal cell culture up to packaging the dried algal powder, both to protect the astaxanthin from degradation or deterioration by bacteria, excess heat, oxygen, and light, and to prevent contamination from foreign bodies.</p> <p>In our manufacturing process, raw material with an astaxanthin content of over 5% is consistently produced (Zhang, 2005, 2007), which is much higher than that obtained from outdoor cultivation, where it reduces to less than 2% in the winter season (personal communication). This stable supply of highly sterilized biomass with a high astaxanthin content is advantageous, not only to maintain low extraction costs during downstream processing, but also as a quality and safety guarantee for further downstream business partners and end-users.</p>	<p>Vận chuyển Kiểm tra Đóng gói Nồng độ Chiết tách Vận chuyển Kiểm tra Đóng gói Phơi khô Chia tách Nuôi</p> <p>Hình 18,5 Sơ đồ quy trình sản xuất nguyên liệu thô astaxanthin (a) và sau đó astaxanthin chứa dầu <i>H. pluvialis</i> (b). các bước thu hoạch tiếp theo nuôi ô(tế bào) tảo đến đóng gói bột tảo khô, vừa để bảo vệ astaxanthin bị suy giảm chất lượng hoặc hư hỏng do vi khuẩn, nhiệt dư thừa, oxy, và ánh sáng, và để ngăn ngừa ô nhiễm từ các tác nhân bên ngoài.</p> <p>Trong quá trình sản xuất của chúng tôi, nguyên liệu với hàm lượng astaxanthin luôn luôn trên 5% được sản xuất (Zhang, 2005, 2007), cao hơn so với trường hợp được nuôi ngoài trời, ở đó nó giảm ít hơn 2% vào mùa đông (trao đổi cá nhân). Điều này cung cấp một lượng sinh khối ổn định tiệt trùng cao với hàm lượng astaxanthin cao là một điều thuận lợi, không chỉ để duy trì chi phí khai thác thấp trong quá trình chế biến xuôi dòng, cũng như đảm bảo chất lượng và an toàn cho các đối tác kinh doanh và người tiêu dùng.</p> <p>18.4.2 HỆ THỐNG ĐẢM BẢO CHẤT LƯỢNG THEO ĐIỀU KIỆN THỰC HÀNH</p>
---	---

#### 18.4.2 QUALITY ASSURANCE SYSTEM UNDER GOOD MANUFACTURING PRACTICE CONDITIONS

GMP is the rule employed to produce high-quality and safe products, by which a manufacturing system is guaranteed constant quality throughout the whole process, from the raw material stock to product shipment. Although the GMP was originally imposed as a legal duty for medicine manufacturers, similar GMP conditions have been applied to manufacturers of cosmetics, food additives, and health foods in recent years. In February 2005, the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare published a voluntary inspection guideline on GMP in the manufacturing of health foods and the safety of raw materials (No. 0201003). We designed and improved our factory to meet the GMP requirements and in July 2007 the Fukuroi factory II was given a health food raw material GMP certification by the Japanese Health Food Standards Association (JIHFS).

Our quality assurance system had thus established a reliable GMP system, certified by an outside organization. Our GMP is composed of three basic principles: keeping mistakes to a minimum level; preventing pollution and product loss; and designing a management system for guaranteed high-quality products. The indispensable requirements to achieve this GMP are listed below, where (1) through (4) are germane to management side while (5) through (8) refer to equipment.

1. The complete preparation of various standard operation procedures (SOPs), operation manuals and operational records; correct operation of equipment strictly observing these SOPs and manuals. In

#### SẢN XUẤT TỐT

GMP là nguyên tắc được sử dụng để sản xuất các sản phẩm chất lượng cao và an toàn, theo đó một hệ thống sản xuất được đảm bảo chất lượng liên tục trong suốt toàn bộ quá trình, từ nguồn nguyên liệu thô đến sản xuất và vận chuyển. Mặc dù ban đầu GMP đã được áp đặt như một nghĩa vụ pháp lý cho các nhà sản xuất thuốc, các điều kiện GMP tương tự đã được áp dụng cho các nhà sản xuất mỹ phẩm, phụ gia thực phẩm, và các loại thực phẩm bổ dưỡng trong những năm gần đây. Vào tháng hai năm 2005, Bộ Y tế, Lao động và Phúc lợi Nhật Bản đã công bố một bản hướng dẫn kiểm tra tự nguyện về GMP trong sản xuất thực phẩm bổ dưỡng và sự an toàn của nguyên liệu thô (số 0.201.003). Chúng tôi thiết kế và cải tiến nhà máy của chúng tôi để đáp ứng các yêu cầu GMP và vào tháng 7 năm 2007 nhà máy Fukuroi II đã nhận được chứng nhận GMP về nguyên liệu thô cho Thực phẩm bổ dưỡng của Hiệp hội Tiêu chuẩn Thực Phẩm Bổ Dưỡng Nhật Bản (JIHFS). Vì thế, hệ thống đảm bảo chất lượng của chúng tôi đã xây dựng một hệ thống GMP đáng tin cậy, được chứng nhận bởi một tổ chức bên ngoài. GMP của chúng tôi gồm có ba nguyên tắc cơ bản: duy trì sai sót ở mức tối thiểu, ngăn ngừa ô nhiễm và mất sản phẩm và thiết kế một hệ thống quản lý để đảm bảo sản phẩm chất lượng cao. Các yêu cầu không thể thiếu để đạt được GMP này được liệt kê dưới đây, trong đó (1) đến (4) thiên về hướng quản lý trong khi (5) đến (8) cập đến thiết bị.

1. Chuẩn bị đầy đủ các quy trình hoạt động tiêu chuẩn khác nhau (SOPs), hướng dẫn vận hành và các sổ theo dõi hoạt động, chính xác hóa các hoạt động của các thiết bị một cách nghiêm ngặt quan sát các SOP này và

<p>addition, correct storage of the operation records, for easy access.</p> <p>2. A traceability system using serial numbers for each product lot.</p> <p>3. An education and training system, and skills improvement for all staff and workers at the plant.</p> <p>4. Execution of a rigorous plant self-check system, based on our GMP, at the end of every run.</p> <p>5. Clean-room installation, complete control of air-conditioning facilities and purification control in all production processes.</p> <p>6. Manufacturing environment maintenance to prevent cross-contamination and foreign body mixing.</p> <p>7. Installation of appropriate inspection equipment for both the process control and product standard test.</p> <p>8. Running the automatic production monitoring system over 24 h.</p> <p>Astaxanthin raw material manufactured under GMP conditions in the Fukuroi factory II is shipped to a medicine manufacturer for further extraction to prepare astaxanthin-containing <i>H. pluvialis</i> oil (Figure 18.5b). The extraction process to produce astaxanthin oil also fulfills both the production system and quality assurance system in accordance with the principles of GMP. Our GMP-grade astaxanthin oil product (Figure 18.6) is</p>	<p>hướng dẫn sử dụng. Ngoài ra, lưu trữ chính xác các số theo dõi hoạt động, để truy cập dễ dàng.</p> <p>2. Một hệ thống theo dõi dùng số seri của từng lô sản phẩm.</p> <p>3. Một hệ thống giáo dục và đào tạo, và cải thiện các kỹ năng cho tất cả các nhân viên và công nhân tại nhà máy.</p> <p>4. Thực thi một hệ thống tự kiểm tra kế hoạch sản xuất nghiêm ngặt, dựa trên tiêu chuẩn GMP của chúng tôi, ở phần cuối của mỗi lần chạy.</p> <p>5. Lắp đặt phòng sạch, kiểm soát hoàn toàn các thiết bị điều hòa không khí và kiểm soát sự tinh khiết trong tất cả các quá trình sản xuất.</p> <p>6. Bảo trì môi trường sản xuất để ngăn ngừa lây nhiễm chéo và sự lẫn các vật bên ngoài.</p> <p>7. Lắp đặt thiết bị kiểm tra thích hợp cho cả hai mục đích điều khiển quy trình và kiểm tra tiêu chuẩn sản phẩm.</p> <p>8. Chạy hệ thống giám sát sản xuất tự động trong vòng 24 h.</p> <p>Nguyên liệu thô Astaxanthin được sản xuất theo tiêu chuẩn GMP tại nhà máy Fukuroi II được chuyển tới một nhà sản xuất thuốc để chiết tách thêm và thu được astaxanthin có chứa dầu <i>H. pluvialis</i> (hình 18.5b). Quá trình chiết tách để tạo ra dầu astaxanthin cũng thỏa mãn cả hai hệ thống sản xuất và hệ thống đảm bảo chất lượng phù hợp với các nguyên tắc của GMP. Sản phẩm dầu astaxanthin mức GMP của chúng tôi (hình 18,6) được sản xuất sử dụng một hệ thống đảm bảo chất lượng tiên tiến tương đương với hệ thống được sử dụng</p>
---	--

prepared using an advanced quality assurance system equal to that used in orally administered medicine.

FIGURE 18.6 Yamaha Motor's GMP-grade astaxanthin oil product.

## 18.5 ASTAXANTHIN AND ITS SOURCE, HEMATOCOCCUS ALGA

### 18.5.1 ASTAXANTHIN

Astaxanthin, a natural lipophilic tetra terpenoid with a deep red color, is a carotenoid like P-carotene and lycopene and is widely distributed in nature, especially in marine organisms including salmon, salmon roe, shrimp, crab, and microalgae (Hussein et al., 2006). It is a xanthophyll from the carotenoid group, with oxygen-containing functional groups, and also possesses hydroxyl and oxo functional groups. In nature, astaxanthin is found in its esterified form or binding form, bound to proteins, because these forms are more stable than the dialcohol form.

Plants, algae, and microorganisms can synthesize de novo carotenoids; however, animals lack the ability to synthesize these compounds and so must acquire them from their diet. Many carotenoids are known as provitamin A as they can be cleaved at the central C15=C15' double bond and converted into vitamin A in vivo (Goodman and Huang, 1965; Olson and Hayashi, 1965). In fish, many xanthophylls, including astaxanthin, are reported to be converted reductively to retinol in vivo (Katsuyama and Matsuno, 1988). In contrast, human astaxanthin is reported to be cleaved asymmetrically at the C9 position and is therefore regarded as a non-provitamin A carotenoid (Kistler et al., 2002).

trong sản xuất thuốc uống qua đường miệng (orally administered medicine).

Hình 18,6 Sản phẩm dầu cấp độ GMP của Yamaha Motor.

## 18,5 ASTAXANTHIN VÀ NGUỒN CỦA NÓ, TẢO HEMATOCOCCUS

### 18.5.1 ASTAXANTHIN

Astaxanthin, terpenoid tetra lipophilic tự nhiên với một màu đỏ đậm, là một loại carotenoid như P-carotene và lycopene và phân bố rộng rãi trong tự nhiên, đặc biệt là trong các sinh vật biển bao gồm cá hồi, trứng cá hồi, tôm, cua, và vi tảo (Hussein và các cộng sự. , 2006). Nó là một xanthophylls (hoàng thể tố) từ nhóm carotenoid, với các nhóm chức chứa ôxi, và cũng có các nhóm chức hydroxyl và oxo. Trong tự nhiên, astaxanthin được tìm thấy ở dạng este hóa hoặc dạng liên kết, gắn kết với protein, bởi vì các dạng này ổn định hơn dạng dialcohol.

Thực vật, tảo, và vi sinh vật có thể tổng hợp các carotenoid tự phát, tuy nhiên, động vật không có khả năng tổng hợp các hợp chất này và do đó phải dung nạp chúng qua chế độ ăn uống. Nhiều Carotenoid được gọi là tiền vitamin A vì chúng có thể bị tách liên kết đôi C15= C15 ' trung tâm và chuyển thành vitamin A trong cơ thể (Goodman và Huang, 1965; Olson và Hayashi, 1965). Trong cá, nhiều hoàng thể tố (xantofin), kể cả astaxanthin, được báo cáo là có khả năng được chuyển hoàn toàn thành retinol trong cơ thể (Katsuyama và Matsuno, 1988). Ngược lại, astaxanthin người được báo cáo là được phân chia không đối xứng ở vị trí C9 và do đó không được xem là tiền vitamin A carotenoid (Kistler và các cộng



Xanthophyll esters are thought to be hydrolyzed prior to absorption (Zaripheh, 2002). Only non-esterified astaxanthin is detected in serum after the ingestion of esterified astaxanthins (Coral-Hinostrroza et al., 2004; Odeberg et al., 2003). Xanthophylls are mixed with bile acid to make a micelle, and are absorbed as a micellar solution by the *intestinum tenue* after intake. The absorbed xanthophylls are then incorporated by intestinal mucosal cells into chylomicra and released into the lymph. In the lymph, chylomicra-containing xanthophylls are digested by lipoprotein lipase, reducing their size, and xanthophylls reach the liver as chylomicra remnants. In the liver, they are incorporated into lipoprotein, which is synthesized in the liver, and translocated to each tissue. It was recently reported in humans that blood xanthophylls translocate more easily to red blood cells than to plasma when compared with hydrocarbon carotenoids (Nakagawa et al., 2008). It is suggested that the difference in the chemical nature of xanthophylls and hydrocarbon carotenoids causes the difference in their *in vivo* behavior.

Due to their high antioxidant properties and other functions (see Section 18.6), many astaxanthin-containing nutraceuticals with potent effects on human health are coming onto the market.

#### 18.5.2 STRUCTURE AND SOURCE OF ASTAXANTHIN

The astaxanthin molecule has a symmetric configuration and two chiral centers; two carbon atoms adjacent to hydroxyl functional groups are chiral. There are three enantiomeric isomers of astaxanthin, (3S, 3'S), (3R, 3R), and

(3R, 3R), (3S, 3S), and (3R, 3S) (Zaripheh, 2002).

Este xanthophyll được cho là thủy phân trước khi hấp thụ (Zaripheh, 2002). Astaxanthin không este hóa duy nhất được phát hiện trong huyết thanh sau khi uống astaxanthins este hóa (Coral-Hinostrroza và các cộng sự, 2004; Odeberg và các cộng sự, 2003). Hoàng thể tố (xanthophylls) được trộn lẫn với acid tiết ra từ mật để tạo ra một hỗn hợp (vi hạt), và được hấp thụ như một dung dịch hỗn hợp qua ruột non sau khi uống. Sau đó, hoàng thể tố (xanthophylls) được hấp thụ được tích hợp bởi các tế bào niêm mạc ruột vào chylomicra (vi thể nhũ trắng) và đi vào bạch huyết. Trong bạch huyết, hoàng thể tố (xanthophylls) chứa chylomicra được tiêu hóa bởi enzym lipoprotein lipase, làm giảm kích thước của chúng, và hoàng thể tố (xanthophylls) đến gan như các chất thừa chylomicra. Trong gan, chúng được tích hợp vào lipoprotein, được tổng hợp trong gan, và được di chuyển đến mỗi mô. Gần đây người ta phát hiện ra rằng ở người các hoàng thể tố (xanthophylls) máu dễ dàng chuyển thành các tế bào máu đỏ hơn so với huyết tương khi so sánh với các carotenoid hydrocarbon (Nakagawa và các cộng sự, 2008). Điều đó cho thấy rằng sự khác biệt về bản chất hóa học của hoàng thể tố (xanthophylls) và carotenoids hydrocarbon gây ra sự khác biệt về tính chất của chúng trong cơ thể.

Do đặc tính chống oxy hóa cao và các chức năng khác (xem Phần 18,6), nhiều astaxanthin chứa các chất dinh dưỡng có tác động tích cực đến sức khỏe con người đang dần xuất hiện trên thị trường.

#### 18.5.2 CẤU TRÚC VÀ NGUỒN ASTAXANTHIN

Phân tử astaxanthin có một cấu hình đối xứng

(3R, 3S). Chemically synthesized astaxanthin is a mixture of 1:2:1 of (3S, 3S), (3R, 3S), and (3R, 3R) enantiomer, respectively. This is mainly used in the field of aquaculture as a reviver and is not used as an ingredient in human nutraceuticals. A green microalga (*H. pluvialis*), a red yeast (*Phaffia rhodozyma*), and crustacean by-products are commercially available as natural sources of the astaxanthin pigment. These sources are often used in the nutraceutical industry because of recent natural food trends and safety concerns. The forms of astaxanthin in these natural sources are slightly different from each other.

Astaxanthin from *Haematococcus* is the (3S, 3S) isomer (Renstrom et al., 1981) and is almost esterified with fatty acid to form mono- or diesters (Johnson and An, 1991). In contrast, *Phaffia rhodozyma* is reported to synthesize the (3R, 3R) isomer (Torissen et al., 1989), which is mainly unesterified (Andrewes and Starr, 1976). *Haematococcus* alga is considered to be the most efficient natural source of astaxanthin (Hussein et al., 2006) and is presently used as the main source of natural astaxanthin (see Section 18.5.4).

### 18.5.3 ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF ASTAXANTHIN

Carotenoids are generally known to possess powerful antioxidative activity, thought to be because of their long conjugated polyene system (Nishida et al., 2007). The stable structure and strong antioxidative activity of astaxanthin is considered to be due to the conjugation of the oxo group to the polyene

và hai tâm **bất đối xứng**, hai nguyên tử carbon liền kề với nhóm chức hydroxyl bất đối xứng. Có ba đồng phân đối hình của astaxanthin, (3S, 3S), (3R, 3R), và (3R, 3S). Astaxanthin tổng hợp hóa học là một hỗn hợp 01:02:01 tương ứng của (3S, 3S), (3R, 3S), và isome quang (3R, 3R). Hợp chất này chủ yếu được sử dụng trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản như một **chất hồi phục** (trẻ hóa, phục hồi sinh lực) và không được sử dụng như một thành phần trong thực phẩm dinh dưỡng của người. Vi tảo xanh lá cây (*H. pluvialis*), men màu đỏ (*Phaffia rhodozyma*), và các phụ phẩm giáp xác đã có mặt trên thị trường như các nguồn chất tạo màu astaxanthin tự nhiên. Các nguồn này thường được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm dinh dưỡng vì xu hướng thực phẩm tự nhiên gần đây và vấn đề an toàn. Các dạng astaxanthin trong các nguồn tự nhiên này hơi khác nhau. Astaxanthin từ *Haematococcus* là đồng phân (3S, 3S) (Renstrom và các cộng sự, 1981) và gần như bị este hóa với axit béo để tạo thành mono hoặc các dieste (Johnson và An năm 1991). Ngược lại, *Phaffia rhodozyma* được chứng minh là có khả năng tổng hợp đồng phân (3R, 3R) (Torissen và các cộng sự, 1989), nó không bị este hóa (Andrewes và Starr, 1976). Tảo *Haematococcus* được xem là nguồn astaxanthin tự nhiên hiệu quả nhất (Hussein và các cộng sự, 2006) và hiện đang được sử dụng như một nguồn astaxanthin tự nhiên chính (xem mục 18.5.4).

### 18.5.3 HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA ASTAXANTHIN

Carotenoid thường được biết với tư cách là chất có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, được cho là vì hệ polyene liên hợp dài của chúng (Nishida và các cộng sự, 2007). Cấu trúc ổn định và hoạt tính chống oxy hóa mạnh của

system. Astaxanthin is reported to show a strong quenching effect against singlet oxygen, with potency more than 100-fold higher than that of a-tocopherol (Miki, 1991). This same study also reports that astaxanthin shows strong activity against lipid peroxidation. In addition, astaxanthin is reported to have no pro-oxidative properties: other carotenoids, such as P-carotene, lycopene, and zeaxanthin, under certain conditions, are considered to possess pro-oxidative properties (Martin et al., 1999).

#### 18.5.4 HEMATOCOCCUS Algae

*H. pluvialis*, Flotow, Volvocales, Chlorophyceae, is a unicellular freshwater green microalga. In response to environmental conditions, the green flagellated cells (vegetative cells) gradually transform into cyst cells without flagellae (the aplanospores), accompanied by a marked accumulation of astaxanthin, resulting in the formation of red-colored cells (Margalith, 1999). The size of a vegetative cell is less than 10  $\mu\text{m}$  in diameter, although it gradually increases to over 40-50  $\mu\text{m}$  after transforming into cyst cells. In oxygenic photosynthetic organisms, carotenoids play important roles in the light-harvesting complex and in the protection of photosynthetic machinery, by dissipating excess light energy (Frank and Cogdell, 1996). These types of carotenoids are referred to as primary carotenoids and are essential in metabolism (Krishna and Mohanty, 1998). These carotenoids are localized in thylakoid membranes of the chloroplast. In contrast, secondary carotenoids such as astaxanthin are not functionally obligatory for photosynthesis. Astaxanthin in *H. pluvialis* accumulates in cytoplasmic lipid globules of the cell: accumulation occurs in response to environmental stimuli, such as high light intensity and oligotrophic conditions. In *H.*

astaxanthin được xem là do sự liên hợp của nhóm oxo với hệ polyene. Người ta đã chứng tỏ rằng Astaxanthin thể hiện hiệu ứng dập tắt mạnh chống lại oxy đơn, với uy lực cao hơn 100 bậc so với a-tocopherol (Miki, 1991). Nghiên cứu này cũng báo cáo rằng astaxanthin thể hiện hoạt tính mạnh chống lại chất béo xấu. Ngoài ra, astaxanthin được báo cáo là không có các tính chất tiền oxy hóa (tự kích hoạt oxy hóa): các carotenoid khác, như carotene-P, lycopene, và zeaxanthin, trong những điều kiện nhất định, được xem là có tính chất **tiền oxy hóa** (tự kích hoạt oxy hóa) (Martin và các cộng sự, 1999.).

#### 18.5.4 TẢO HEMATOCOCCUS

*H. pluvialis*, Flotow, Volvocales, Chlorophyceae, là vi tảo xanh lục nước ngọt đơn bào. Để đáp ứng với điều kiện môi trường, các tế bào roi màu xanh lá cây (tế bào thực vật) dần dần biến đổi thành các tế bào nang mà không có flagellae (roi, bộ phận giống như cánh quạt) (**aplanospores**-các bào tử bất động), kèm theo sự tích lũy đáng kể astaxanthin, dẫn đến sự hình thành các tế bào màu đỏ (Margalith, năm 1999). Kích thước của tế bào thực vật có đường kính nhỏ hơn 10  $\mu\text{m}$ , mặc dù nó tăng dần đến trên 40-50  $\mu\text{m}$  sau khi chuyển đổi thành các tế bào nang. Trong các sinh vật quang hợp tạo oxy, carotenoids đóng vai trò quan trọng trong phức hệ thu ánh sáng và trong việc bảo vệ bộ máy quang hợp, bằng cách làm tiêu hao ánh sáng dư (Frank và Cogdell, 1996). Các loại carotenoid này được gọi là carotenoid chính và rất cần thiết trong quá trình trao đổi chất (Krishna và Mohanty, 1998). Các carotenoid nằm trong màng thylakoid của lục lạp (chloroplast). Ngược lại, các carotenoid thứ cấp như astaxanthin không cần thiết trong quá trình quang hợp.

pluvialis, it is considered that astaxanthin acts as a sunshade (Hagen et al., 1994), to provide protection from photodamage (Hagen et al., 1993), or to minimize oxidation of storage lipids (Sun et al., 1998).

Astaxanthin trong *H. pluvialis* tích lũy trong các giọt lipid tế bào chất của tế bào: sự tích tụ xảy ra trong quá trình đáp ứng với các kích thích của môi trường, chẳng hạn như cường độ ánh sáng cao và các điều kiện nghèo dinh dưỡng. Trong *H. pluvialis*, người ta xem astaxanthin đóng vai trò như một tấm chắn (Hagen và các cộng sự, 1994), để chống lại sự phá hủy quang học (Hagen và các cộng sự, 1993), hoặc để giảm thiểu sự oxy hóa của chất béo lưu trữ (Sun và các cộng sự, 1998).

**Theo yêu cầu của khách hàng, trong một năm qua, chúng tôi đã dịch qua 16 môn học, 34 cuốn sách, 43 bài báo, 5 sổ tay (chưa tính các tài liệu từ năm 2010 trở về trước) Xem ở đây**

**DỊCH VỤ  
DỊCH  
TIẾNG  
ANH  
CHUYÊN  
NGÀNH  
NHANH  
NHẤT VÀ  
CHÍNH  
XÁC  
NHẤT**

Chỉ sau một lần liên lạc, việc dịch được tiến hành

Giá cả: có thể giảm đến 10 nghìn/1 trang

Chất lượng: Tạo dựng niềm tin cho khách hàng bằng công nghệ 1. Bạn thấy được toàn bộ bản dịch; 2. Bạn đánh giá chất lượng. 3. Bạn quyết định thanh toán.

*Tìm hiểu về dịch vụ dịch anh-việt của chúng tôi tại*

[www.mientayvn.com/Tim-hieu-ve-dich-vu-bang-cach-doc.html](http://www.mientayvn.com/Tim-hieu-ve-dich-vu-bang-cach-doc.html)

Bản gốc của tài liệu:

<https://docs.google.com/file/d/0B2JJJMzJbJcwOUFEaF80WjBiUU0/edit>