

BIOTECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF AN INNOVATIVE MULTISTRAIN PROBIOTIC WITH SELENIUM NANOPARTICLES: ACTIVE SUBSTANCE PRODUCERS AND FEASIBILITY STUDY OF THE DRUG

D. Syniavska, N. Hrehirchak

National University of Food Technologies

Key words:

Selenium
Nanoparticles
Lactic acid bacteria
Biotransformation
Probiotics
Selenium deficiency

Article history:

Received 16.09.2024
Received in revised form
27.09.2024
Accepted 18.10.2024

Corresponding author:

N. Hrehirchak
E-mail:
g_natal@ukr.net

Citation: Синявська Д. А., Грегірчак Н. М. (2024). Біотехнологія виробництва інноваційного мультиштамового пробіотика з наночастинками селену: продуценти діючої речовини та техніко-економічне обґрунтування лікарського засобу. *Наукові праці НУХТ*, 30(5), 58—69. DOI: 10.24263/2225-2924-2024-30-5-6

ABSTRACT

According to epidemiological research, from 500 million to 1 billion people in the world suffer from selenium deficiency due to insufficient dietary intake of this trace element. It was established that Se in the form of nanoparticles (SeNPs) is an innovative and novel alternative as an object of green synthesis due to their lower toxicity and higher bioavailability compared to traditional chemical forms of dietary Se.

Information on the areas of application of selenium nanoparticles is provided in the article and the peculiarities of their production using lactic acid bacteria are discussed. Particular attention is paid to the use of Se-enriched probiotic agents in medicine. Selenium nanoparticles in combination with probiotics play an important role in the pharmaceutical industry, as they are able to enhance immune responses, such as inflammation relief, antioxidant function, therapeutic effects on tumors, anticancer activity, and regulation of the gut microbiota. SeNPs are also well known for their non-toxicity and safety.

In addition, the annual demand for selenium-enriched multi-strain probiotic products in the world for the prevention and treatment of selenium deficiency — 64.575 kg/year, taking into account the concentration of the active substance, the duration of the treatment course and the number of patients in the world. The study took into account the known drugs for the treatment of selenium deficiency, which are medicines containing selenium in organic and inorganic forms.

БІОТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА ІННОВАЦІЙНОГО МУЛЬТИШТАМОВОГО ПРОБІОТИКА З НАНОЧАСТИНКАМИ СЕЛЕНУ: ПРОДУЦЕНТИ ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ ТА ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Д. А. Синявська, Н. М. Грегірчак

Національний університет харчових технологій

За даними епідеміологічних досліджень, від 500 млн до 1 млрд людей у світі страждають від дефіциту селену через недостатнє споживання цього мікроелемента з їжею. Встановлено, що Se у формі наночастинок (SeNPs) є інноваційною та новою альтернативою як об'єкт зеленого синтезу завдяки їхній меншій токсичності та вищій біодоступності порівняно з традиційними хімічними формами харчового Se.

У статті наведено інформацію щодо галузей використання наночастинок селену, та розглянуто особливості їх одержання за допомогою молочнокислих бактерій. Особливу увагу зосереджено на використанні Se-збагачених пробіотичних засобів у медицині. Наночастинки селену в поєднанні з пробіотиками відіграють важливу роль у фармацевтичній промисловості, адже вони здатні посилювати імунні реакції, такі як зняття запалення, антиоксидантну функцію, терапевтичний вплив на пухлини, протиракову активність і регуляцію мікробіоти кишечника. SeNPs також добре відомі своєю нетоксичністю та безпечністю.

Окрім цього, у представленому матеріалі зроблено аналіз щодо забезпечення річної потреби в селенозбагаченому мультиштамовому пробіотичному засобі для профілактики та лікування дефіциту селену, — 64,575 кг/рік, з урахуванням концентрації діючої речовини, тривалості курсу лікування та кількості хворих в світі. При цьому було враховано вже відомі препарати для лікування дефіциту селену — це лікарські засоби з вмістом селену в органічній та неорганічній формах.

Ключові слова: селен, наночастинки, молочнокислі бактерії, біотрансформація, пробіотики, дефіцит селену.

Постановка проблеми. Останнім часом спостерігається зростаючий дефіцит Se, пов'язаний зі зменшенням його вмісту в рослинній сировині, оскільки існує тенденція до зниження вмісту Se в ґрунтах у багатьох регіонах світу. Зокрема, вміст Se в ґрунтах України коливається від 0,03 до 0,88 мг/кг, а більшість зразків ґрунту з різних регіонів мають вміст селену менше 0,2 мг/кг, що є досить низьким показником (Kushnir, Stadnyk, Kasiyan, Kudrinskaya, & Basiuk, 2019). Також значною проблемою є наявність в Україні кислих ґрунтів, де неорганічні форми Se здатні утворювати хелати з гідроксидом заліза і в результаті практично не споживаються рослинами (Stabnikova, Antoniuk, Stabnikov, & Arsenyeva, 2019).

Дослідження показують, що до 2080—2099 рр. унаслідок зміни клімату вміст селену в ґрунті зменшиться на 8,4%, зокрема цей дефіцит буде домінувати в сільськогосподарських районах (Jones та ін., 2017).

Згідно зі статистичними даними близько 0,5—1 млрд людей у світі страждають через нестачу цього мікроелемента, тому існує нагальна потреба у розробці сучасних ефективних препаратів з метою профілактики та лікування захворювань (Kieliszek, & Błażejczak, 2016).

Огляд останніх досліджень і публікацій. На сьогодні особливо цікавим напрямком наукових досліджень, які в подальшому масштабуватимуться в практичній діяльності, є пошук і розробка технології та складу інноваційних пробіотиків з наноматеріалами, оскільки компоненти такого лікарського засобу створюватимуть синергетичний ефект для покращення здоров'я людини та матимуть можливість його застосування не лише для подолання дефіциту Se, а також у комплексній терапії для профілактики та лікування захворювань кишечника.

Наночастинки селену становлять інноваційну та новаторську альтернативу як об'єкти зеленого синтезу завдяки їх нижчій токсичності та вищій біодоступності порівняно з хімічними формами дієтичного Se (Au, Mojadadi, Shao, Ahmad, & Witting, 2023).

Традиційними методами синтезу SeNPs є фізичний і хімічний синтези, які мають складні операційні процеси, високі виробничі витрати та складне великомасштабне виробництво. Однак біотрансформація SeNPs за допомогою біологічних агентів є більш перспективним способом, який ефективно використовує неорганічний Se для синтезу елементарного Se⁰ шляхом біологічного збагачення (Liao, & Wang, 2022).

Особливу увагу серед мікроорганізмів, здатних до синтезу SeNPs, привертають молочнокислі бактерії, що належать до родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* та *Bifidobacterium* (Stabnikova, Khonkiv, Kovshar, & Stabnikov, 2023).

З огляду на наведену вище інформацію можна стверджувати, що дослідження біотехнології виробництва наночастинок селену та використання їх у складі пробіотиків є доволі актуальним напрямком і становить не лише науковий, але й практичний інтерес.

Метою статті є аналіз наукової літератури щодо перспектив біосинтезу наночастинок селену та їх використання у різних галузях, зокрема медичній, а також обґрунтування виготовлення мультиштамового пробіотика, збагаченого SeNPs, для лікування та профілактики дефіциту селену.

Матеріали і методи. Для вирішення завдань дослідження проведено пошук, збір і детальний аналіз за інформаційними джерелами цитування PubMed, Google Scholar, Elsevier і ResearchGate.

Викладення основних результатів дослідження. Молочнокислі бактерії як біологічні агенти мають певні переваги порівняно з іншими продуцентами (EFSA, 2021). Так, ключову роль відіграє їх здатність до вироблення молочної кислоти, яка, у свою чергу, є сильним відновлювачем і стабілізатором для наночастинок (Javed та ін., 2020). Заслуговує на увагу також можливість їх синтезу за кімнатної температури й атмосферного тиску, що суттєво знижує енергетичні витрати та вплив на навколишнє середовище.

При виборі біологічного агенту для виробництва пробіотичного засобу, збагаченого SeNPs, необхідно звертати увагу на такі критерії, як біомаса і швидкість

або кількість збагачення Se, що, у свою чергу, дасть змогу накопичувати Se, зберігаючи високу життєздатність клітин.

Аналіз наукових досліджень останніх років дав змогу узагальнити (табл. 1) інформацію про найпродуктивніші біологічні агенти та умови їх культивування для отримання Se-збагаченої біомаси.

Таблиця 1. Особливості культивування продуцентів і технології трансформації наночастинок селену

Біологічний агент	Особливості процесу біосинтезу	Тривалість культивування, год	Концентрація біомаси, г/л	Кількість життєздатних клітин, КУО/мл	Обсяг збагачення Se, мг/г	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г	Джерело
<i>Lactobacillus paracasei</i> 20241	37 °C, 6 мкг/мл Na ₂ SeO ₃ , pH 6,5, 4% інокуляту, MRS-broth	36	0,56	8,8×10 ¹⁰	2,14	44,59	Sun та ін., 2022
<i>Lactobacillus plantarum</i> CRL 2030	30 °C, 5 мг/л Na ₂ SeO ₃ , 2% інокуляту, MRS-broth	24	0,6	8,8×10 ¹⁰	1,96	41,62	Martínez, Moreno-Martin, Pescuma, Madrid-Albarrán, & Mozzi, 2020
<i>Lactobacillus plantarum</i> 6076	37 °C, 10 мкг/мл Na ₂ SeO ₃ , MRS-broth	18	0,5	3,9×10 ¹⁰	4,88	49,96	Zan та ін., 2024
<i>Lactobacillus paracasei</i> CH135	37 °C, 150 мг/л Na ₂ SeO ₃ , MRS-broth	24	1,8	5,2×10 ¹⁰	40,68	13,89	Mörschbacher та ін., 2018
<i>Streptococcus thermophilus</i> CCDM 144	37 °C, 50 мг/л Na ₂ SeO ₃ , pH 5,8, M17 broth	24	2,5	7,3×10 ¹⁰	7,35	13,00	Krausova та ін., 2021

Дані, наведені у табл. 1, підтверджують, що найбільший обсяг збагачення Se отримали при культивуванні штаму *Lactobacillus paracasei* CH135 — 40,68 мг/г, а найнижчий — під час біосинтезу *L. plantarum* CRL 2030, який становить 1,96 мг/г.

Оскільки ми передбачаємо виготовлення пробіотичного засобу, збагаченого SeNPs, то кількість життєздатних клітин також є важливим показником при виборі біологічного агенту і повинна становити не менше 10⁸ КУО. Зокрема, відмічено, що найнижчу концентрацію клітин отримали при культивуванні *L. plantarum* 6076 —

3,9×10¹⁰ КУО/мл, а найвищу при культивуванні штаму *L. plantarum* CRL 2030 та *L. paracasei* 20241 — 8,8×10¹⁰ КУО/мл.

Однак для остаточного вибору найефективнішого біологічного агента варто звернути увагу на умовну вартість 1 мг цільового продукту — біомаси збагаченої Se. Так, узагальнюючи вищенаведені дані (табл. 1), можна зробити висновок, що найдешевшим виявився цільовий продукт, синтезований *S. thermophilus* CCDM 144—13,00 грн/г, а найдорожчим — *L. plantarum* 6076, що складає 41,62 грн/г.

Проте як потенційний селенсинтезуючий пробіотичний штам доцільно використовувати *L. paracasei* CH135. Такий вибір обґрунтований тим, що для його культивування використовується відносно недороге поживне середовище. При цьому біологічний агент має найвищий обсяг збагачення Se — 40,68 мг/г та задовільну кількість життєздатних клітин і може бути рекомендований для виробництва пробіотичного препарату.

З огляду на літературні дані біосинтезовані SeNPs можна використовувати не лише для профілактики та лікування дефіциту Se, але й для широкого цільового спектра. Зокрема встановлено, що SeNPs мають великий потенціал у лікуванні діабету та хвороби Альцгеймера, окислювального стресу, запальних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, у протипухлинній терапії та служать протектором від токсичних речовин, включаючи важкі метали (Ferro, 2021; Khurana, 2019; Rehman, 2021).

Також повідомляється про можливу розробку перев'язувальних матеріалів на основі SeNPs для прискорення загоєння інфікованих ран (Fang, 2023; Abbaszadeh, 2019), розробку харчових добавок для людей і ветеринарних потреб (Malyugina, Skalickova, Skladanka, Slama, & Horky, 2021), розробку тест-системи для виявлення вірусів, наприклад, тест-смужки для виявлення анти-SARS-CoV-2 IgM та IgG у сироватці та крові людини (Chen, 2022; Wang, 2020).

Наразі популярним також є виробництво космецевтики та нанокосмецевтики для догляду за шкірою, волоссям, нігтями, губами та захисту від зморшок, фотостаріння, гіперпигментації, лупи та пошкодження волосся з SeNPs (Walsh, Kamali, McGrath, Hogan, & Hanrahan, 2023). Селеновмісну косметику розробляють і виробляють Ризький університет імені Страдіня, компанія Phyto-C (Нью-Йорк, США), Cytolnat® (Париж, Франція) та ін.

Оскільки значна частина світового населення страждає на дефіцит мікроелементу селену, а способом вирішення для подолання цього захворювання є застосування лікарських засобів і дієтичних добавок, то пропонуємо виготовлення пробіотичних засобів із вмістом SeNPs. Адже зважаючи на численні позитивні результати досліджень, таке поєднання може створювати синергетичний ефект для покращення здоров'я людини, що становить не лише науковий, але й практичний інтерес.

Відповідно до звіту (Global Opportunity Analysis, & Industry Forecast, 2022), обсяг ринку продуктів Se досягне 345,6 млн дол. США до 2027 року, при середньорічному темпі зростання (CAGR) 9,7%.

Однак зареєстрованих лікарських засобів із вмістом SeNPs на тепер немає. Загалом на ринку України препарати для лікування дефіциту селену представлені у

вигляді різних діючих речовин, серед яких значну частку займають органічні форми. У табл. 2 наведено інформацію щодо існуючих препаратів для лікування дефіциту селену на ринку України.

Таблиця 2. Представлені на ринку України лікарські засоби, що містять селен

Назва препарату	Виробник	Форма випуску	Склад	Ціна	Джерело
Цефасель	Cefak (Німеччина)	Таблетки	1 таблетка містить 0,219 мг натрію селеніту, що відповідає 100 мкг селену	450,70 грн	1
Селенорм	Омніфарма (Україна)	Таблетки	1 таблетка містить 250 мкг L-селенометіоніну, що відповідає 100 мкг селену	271,10 грн	2
Selenium Apnas Natural	21st Century Health Care Inc. (США)	Капсули	1 капсула містить 200 мкг селену (у вигляді дріжджів з високим вмістом селену)	526,90 грн	3
Yeast-free Selenium	Solgar Vitamin & Herb (США)	Таблетки	1 таблетка містить 250 мкг L-селенометіоніну, що відповідає 100 мкг селену	456,70 грн	4
Selenium Solution	Nutricology (США)	Розчин	2,5 мл розчину містить натрію селеніту, що відповідає 100 мкг селену	943,00 грн	5
Selen	Dr. Max (Чехія)	Таблетки	1 таблетка містить 100 мкг органічного селену, витягнутого із культури дріжджів	396,00 грн	6
Selenium Powerfull	Sunny Caps (Україна)	Капсули	1 капсула містить 50 мкг натрію селеніту	249 грн	7

Примітка* 1 — <http://surl.li/tlddg>; 2 — <http://surl.li/igzjf>; 3 — <http://surl.li/tlddo>; 4 — <http://surl.li/tlddx>; 5 — <http://surl.li/tldef>; 6 — <http://surl.li/tldej>; 7 — <http://surl.li/tldjg>.

Проаналізувавши дані табл. 2, можна зробити висновок про те, що препарати із вмістом селену найчастіше випускаються у вигляді таблеток і капсул, а найбільш поширеним дозуванням є 100 мкг Se.

Пропонуємо виготовляти мультиштамовий пробіотик, один із штамів якого — *L. paracasei* CH135, накопичуватиме Se, а інші компоненти створюватимуть сприятливий вплив на організм людини шляхом наявності полікомпонентності, широкого спектра біологічно активних видів, біоплівковою формою організації та взаємовигідними міжпопуляційними зв'язками.

Проаналізувавши ринок, теоретично приймемо, що одна капсула лікарського засобу матиме вагу 250 мг та міститиме 10 штамів мікроорганізмів, а саме:

- *Lactobacillus acidophilus* NCFM® — це нерухливі палички з заокругленими кінцями, що забарвлюються за Грамом позитивно. Діаметр їхніх клітин становить

0,6—0,9×1,5—6 мкм. Розташовуються поодинокі, попарно або у вигляді коротких ланцюжків. Ці бактерії не утворюють спор та не мають джгутиків. Утворюють колонії у вигляді шматочків вати при культивуванні в агарі з гідролізованим молоком, дріжджовим екстрактом і глюкозою (Irkova, 2017; Akimenko, 2014);

- *Lactobacillus rhamnosus* GR1 та *Lactobacillus rhamnosus* GG — це нерухливі паличкоподібні бактерії, що забарвлюються за Грамом позитивно. Діаметр їхніх клітин становить 0,8—1,0×2,0—4,0 мкм. Розташовуються поодинокі або у вигляді коротких ланцюжків. Не утворюють спор і не мають джгутиків. Утворюють білі (кремові), блискучі круглі колонії, опуклої форми з рівними краями (Nwamaioha, & Ibrahim, 2018);

- *Lactobacillus casei* DN114001 — це грампозитивні, неспороутворюючі, паличкоподібні бактерії з прямокутними кінцями, розміром 0,7—1,1×2—4 мкм, що розташовуються, зазвичай, у вигляді ланцюжків. Утворюють дрібні гладкі блискучі колонії сферичної форми сіро-білого кольору (Gobbetti, & Minervini, 2014);

- *Lactobacillus paracasei* CH135 та *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 — грампозитивні, паличкоподібні, нерухомі бактерії, товщиною від 0,5 до 0,6 мкм та довжиною від 1 до 3 мкм, розміщуються у вигляді окремих клітин або ланцюжків по 4—8 особин. При рості на поверхні агару з гідролізованим молоком культура утворює білі колонії розміром не більше 1,0 мм в діаметрі у вигляді «човників», на поверхні агару — дрібні, білуваті плоскі колонії, при рості в гідролізованому бульйоні та рідкому середовищі MRS — утворює рівномірну каламуть і дрібнодисперсний осад на дні пробірки (штам бактерій *Lactobacillus paracasei*, що використовується у виробництві функціональних добавок для сільськогосподарської птиці: пат. № 109078 Україна: С12N 1/20, А61К 35/74, А23К 1/165, С12R 1/225, А61Р 1/12. № а 2014 03335; заявл. 02.04.2014 ; опубл. 10.07.2015);

- *Lactobacillus plantarum* — грампозитивні палички, які розміщуються поодинокі, попарно чи короткими ланцюжками, розміром 4—10×0,5—0,6 мкм. Нерухомі, спор і капсул не утворюють, не мають джгутиків. На рідкому середовищі МРС-1 виростають у вигляді рівномірної муті і гомогенного білого осаду на дні пробірки. У напіврідкому поживному середовищі МРС-2 утворюють ізольовані колонії у вигляді тяжів. На щільних поживних середовищах молочнокислі палички формують дрібні гладкі блискучі колонії сферичної форми сіро-білого кольору. При глибинному культивуванні в капустиному агарі на 24-у годину росту утворюють колонії білого кольору, округлої форми, діаметром до 1,0 мм з вираженою зоною розчинення крейди, через 48—72 год росту колонії зірчасті, білого кольору, діаметром 2,0—3,0 мм, з добре вираженою зоною розчинення крейди в агарі (Бергілевич та ін., 2010);

- *Lactobacillus helveticus* DSM 4183 — грампозитивні, каталазонегативні, неспороутворюючі та паличкоподібні (діаметр від 0,5 до 1,1 мкм) бактерії. При рості на поверхні MRS культура утворює білі або кремові, гладкі, округлі колонії діаметром близько 1—2 мм. Можуть мати блискучу поверхню та чітко окреслений край (Cagno, & Gobbetti, 2011);

- *Bifidobacterium lactis* Bi-07 та *Bifidobacterium lactis* BI-04 в мазках, пофарбованих за Грамом — грампозитивні поліморфні палички з можливою біфуркацією на одному або двох кінцях, розміщуються у вигляді скупчень або окремих клітин.

При рості на твердому середовищі МРС окремі колонії біфідобактерій мають форму «витягнутих веретен», «дисків», «гречаних зерен» білого кольору за умов культивування в анаеростаті (W. Morovic et al., 2017).

Враховуючи те, що селенозбагачений пробіотичний засіб розроблено на основі теоретичних та експериментальних досліджень, аналогів якого на ринку ще немає, то при розрахунку потужності виробництва, будемо враховувати світову потребу в цьому препараті.

Як уже зазначалося, у світі від дефіциту Se страждає 0,5—1 млрд людей, і на тепер у багатьох країнах спостерігається недостатнє надходження цього елемента (Kieliszek, & Błażej, 2016). У зв'язку з тим, що вміст Se в організмі людини може коригуватись шляхом вживання збагачених цим мікроелементом продуктів харчування, то враховуватимемо, що кількість хворих на дефіцит Se у світі — 500 мільйонів.

При лікуванні дози мікроелемента різняться, тому за основу беремо найпоширенішу — 100 мкг Se в 1 капсулі. Курс лікування призначають індивідуально, але в середньому тривалість прийому препарату із селеном становить 30 днів по 1 капсулі на добу. Для розрахунку річної потреби в пробіотичному засобі необхідно розрахувати кількість селенозбагаченої біомаси на 1 людину, яка лікуватиметься цим лікарським засобом.

Оскільки обраний біологічний агент — *L. paracasei* CH135 накопичує 40,68 мг Se/г, то 100 мкг Se буде міститись у 2,46 мг біомаси.

При подальших розрахунках слід врахувати, що в 2,46 мг селенозбагаченої біомаси міститься 30% захисного середовища. Зробивши перерахунок, отримаємо 1,722 мг біомаси і 0,738 мг захисного середовища.

Отже, доза біомаси із вмістом Se для однієї хворої людини за весь курс лікування становить:

$$1,722 \text{ мг} \times 30 \text{ діб} = 51,66 \text{ мг.}$$

Потреба на курс лікування для забезпечення 500 мільйонів хворих:

$$51,66 \text{ мг} \times 500 \text{ млн} = 25 \text{ 830 кг.}$$

Вихідні дані для розрахунку потреби наведено в табл. 3.

Таблиця 3. Вихідні дані для розрахунку річної потреби в селенозбагаченій біомасі для одержання мультиштамового пробіотика

Захворювання (профілактика)	Частота прийомів на добу, разів	Тривалість курсу лікування, днів	Кількість Se в 1 г біомаси, мг	Кількість Se в 1 капсулі, мкг	Кількість біомаси із Se на одну людину, мг	Кількість хворих в світі станом на 2023 р., млн	Загальна кількість біомаси із Se на всіх хворих, кг
Дефіцит селену	1	30	40,68	100	51,66	500	25 830

Згідно з аналізом наявних на ринку України препаратів і мінеральних добавок встановлено, що офіційно зареєстрованих є лише 116 позицій (Rybachuk, Berehova, & Kubska, 2020).

Відповідно до АТС-класифікації частка позицій, представлена препаратами з селеном, становить 4,08% (рис. 1).

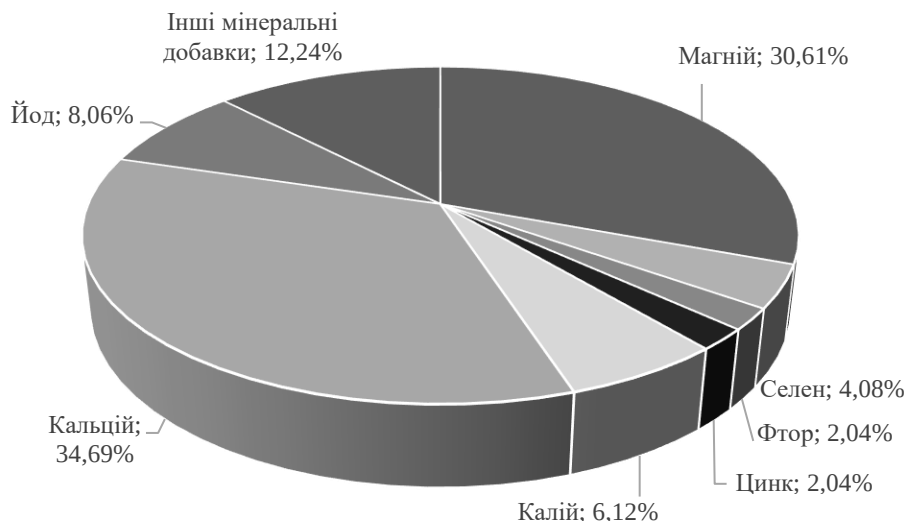


Рис. 1. Розподіл за діючою речовиною торговельних найменувань лікарських препаратів мінеральних добавок, що відносяться до груп A11 «Вітаміни» та A12 «Мінеральні добавки», побудовано за (Rybachuk, Berehova, & Kubska, 2020).

За попередніми розрахунками обрано біологічний агент *L. paracasei* CH135, продуктивність якого становить $X_{кр} = 1,8 \text{ г/л} = 1,8 \text{ кг/м}^3$ культуральної рідини (Mörschbacher та ін., 2018).

Плануємо, що вибрану кількість субстанції будемо виробляти $T_{рд} = 120$ робочих трудоднів. Для подальших розрахунків необхідно знати тривалість виробничого циклу $T_{ф} = 24$ год. Пробіотики отримують із сухою залишковою вологою $W = 3\text{—}5\%$, отже сухої речовини в продукті буде $CP = 0,96$.

Оскільки, за даними ринку селеновмісних препаратів України (рис. 1) станом на 2020 р., такі лікарські засоби займали 4,08% ринку, що становить приблизно 5 препаратів, то в середньому кожен з лікарських засобів із вмістом Se займав 0,8%. Пропонуємо при виході на світовий ринок з новим препаратом при розрахунку річної потреби у запропонованому лікарському засобі прийняти охоплення ринку в 0,25%.

Отже, потужність виробництва складе:

$$G_{нп} = 25\,830 \times 0,0025 = 64,575 \text{ кг.}$$

Потреба світового ринку в селенозбагаченій біомасі складає $G_{нп} = 64,575 \text{ кг}$. Таку кількість цільового продукту необхідно отримати за $T_{рд} = 120$ днів, оскільки решту робочих днів підприємство буде задіяне для біотрансформації інших наночастинок металів, зокрема AgNPs для компонентів перев'язувальних матеріалів, AuNPs для адресної доставки ліків, що оптимізує процес.

За літературними даними максимальний синтез біомаси ($X_{кр} = 1,8 \text{ г/л}$ за $T_{ф} = 24$ год культивування) досягається за умов росту *L. paracasei* CH135 на глюкозі.

Відповідно до ТУ вміст сухих речовин у готовому продукті $СР_{\text{гп}}$ складає 0,96 (частка). Час циклу роботи ферментера:

$$T_{\text{цф}} = T_{\text{ф}} + T_{\text{по}} = 24 + 6,5 = 30,5 \text{ год},$$

де $T_{\text{цф}}$ — цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (24 год) та час підготовки ферментера до роботи (6,5 год).

Підготовка ферментера включає: миття та огляд (1,5 год), перевірка на герметичність (0,5 год), підігрів апарата (0,5 год), стерилізація (1 год), охолодження (0,5 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (0,5 год).

K_1 — коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій 1,1—1,5) прийmemo $K_1 = 1,1$. Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка $E_{\text{св}} = 0,175$. Визначаємо кількість продукту на добу:

$$G_{\text{нтд}} = G_{\text{нт}}/T_{\text{рд}} = 64,575/120 = 0,538 \text{ кг/добу}.$$

Розраховуємо кількість селенозбагаченої біомаси за цикл:

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{нтд}} \times T_{\text{цф}}/24 = 0,538 \times 30,5/24 = 0,684 \text{ кг/цикл}.$$

Об'єм КР, що заливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням втрат при виділенні готового продукту, а також за рахунок можливих нестерильних операцій становить:

$$V_{\text{кр}} = K_1 \times G_{\text{цк}} \times СР_{\text{гп}}/X_{\text{кр}}(1 - E_{\text{св}}) = 1,1 \times 0,684 \times 0,96/1,8(1 - 0,175) = 0,486 \text{ м}^3.$$

Щоб розрахувати приблизний геометричний об'єм ферментера, обираємо коефіцієнт заповнення $K_3 = 0,6$:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}}/K_3 = 0,486/0,6 = 0,81 \text{ м}^3.$$

Обираємо геометричним об'єм ферментера — 1,0 м³. Кількість ферментацій (циклів) на рік:

$$N_{\text{цк}} = G_{\text{нт}}/G_{\text{цк}} = 64,575/0,684 = 95 \text{ циклів}.$$

Оскільки концентрація селенозбагаченої біомаси в культуральній рідині *L. paracasei* CH135 становить 1,8 г/л = 1,8 кг/м³, а потреба у світі — 64,575 кг/рік, то об'єм культуральної рідини включно з витратами за рік дорівнює:

$$V_{\text{крріч}} = (64,575/1,8) \times 1,1 \times 0,85/(1 - 0,175) = 40,66 \text{ м}^3.$$

Кількість виробничих серій препарату за рік дорівнює річній кількості циклів культивування:

$$120 \times 24/30,5 = 95 \text{ серій}.$$

Висновки

Ґрунтовний аналіз наукових праць за період 2013—2024 рр. підтвердив, що способи отримання наночастинок металів, зокрема SeNPs, активно розробляються сучасними дослідниками. У цій статті пропонується використання лікарського засобу певною групою населення для профілактики та лікування дефіциту Se, а також його можливе супутнє застосування в комплексній терапії для лікування захворювань кишечника, адже компоненти препарату створюватимуть синергетичний ефект для покращення здоров'я людини. Розрахована потужність виробництва селенозбагаченої біомаси *L. paracasei* CH135 для одержання субстанції, що становить 64,575 кг за рік.

Однак токсичність, довгострокова стабільність і нездатність до біологічного розкладання металевих NPs є ключовими питаннями, на які слід зважати при розгляді їх використання. Вирішення цих проблем вимагає міждисциплінарного співробітництва та надійного регуляторного нагляду для використання повного потенціалу металевих наночастинок у біомедичному застосуванні, забезпечуючи при цьому безпеку та сталість.

У подальших напрацюваннях буде звернено увагу на вимоги ICH Q3D до цього лікарського засобу, зокрема на інформацію, що стосується процесу оцінки й контролю елементарних домішок у препараті з використанням принципів управління ризиками, що описані в ICH Q9.

Література

Бергілевич, О. М., Касянчук, В. В., Салата, В. З., Семанюк, В. І., Ковальчук, Р. Л., Остапюк, М. П. (2010). *Мікробіологія молока і молочних продуктів з основами ветеринарно-санітарної експертизи*. Суми: Університетська книга.

Бергілевич, О. М., Касянчук, В. В., Власенко, І. Г., Кухтін, М. Д., Ковальчук, Р. Л., Остапюк, М. П. (2010). *Мікробіологія молока і молочних продуктів*. Полтава: Університетська книга.

Abbaszadeh, A., Tehmasebi-Foolad, A., Rajabzadeh, A., Beigi-Brojeni, N., Zarei, L. (2019). Effects of Chitosan/Nano Selenium Biofilm on Infected Wound Healing in Rats; An Experimental Study. *Bull. Emerg. Trauma*, 7, 284—291. doi: 10.29252/beat-0703012.

Akimenko, L., Ushkalov, V., Postoenko, V., Maksimtchuk R. (2014). Standardization of microorganisms *Lactobacillus acidophilus* procedure authentication. *Ветеринарна біотехнологія*, 25.

Au, A., Mojadadi, A., Shao, J., Ahmad, G., & Witting, P. (2023). Physiological Benefits of Novel Selenium Delivery via Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 6068. doi:10.3390/ijms24076068.

Cagno, R., & Gobetti, M. (2011). Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus helveticus*. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, Academic Press, 105—110. doi: 10.1016/B978-0-12-374407-4.00262-4.

Chen, C., Hu, H., Li, X., Zheng, Z., Wang, Z., Wang, X., ..., Ma, Y. (2022). Rapid Detection of Anti-SARS-CoV-2 Antibody Using a Selenium Nanoparticle-Based Lateral Flow Immunoassay. *IEEE Trans. NanoBiosci.*, 21, 37—43. doi: 10.1109/TNB.2021.3105662.

EFSA (2021). Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 15: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/7045>.

Fang, M., Zhang, H., Wang, Y., Zhang, H., Zhang, D., Xu, P. (2023). Biomimetic selenium nano-systems for infectious wound healing. *Eng. Regen.*, 4, 152—160. doi: 10.1016/j.engreg.2023.01.004.

Ferro, C., Florindo, H., Santos, H. (2021). Selenium nanoparticles for biomedical applications: from development and characterization to therapeutics. *Adv. Healthc. Mater.*, 10, e2100598. doi: 10.1002/adhm.202100598.

Gobetti, M., & Minervini, F. (2014). *LACTOBACILLUS* | *Lactobacillus casei*. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, Academic Press, 432—438. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00180-4.

Irkutova, A., Matsyura, A. V. (2017). Ecological and biological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 214—230. doi: 10.15421/2017_109.

Javed, R., Zia, M., Naz, S., Aisida, S. O., Ain, N., & Ao, Q. (2020). Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: Recent trends and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), 172. doi: 10.1186/s12951-020-00704-4.

Jones, G., Droz, B., Greve, P., Gottschalk, P., Poffet, D., McGrath, S., ..., Winkel, L. (2017). Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 114(11), 2848—2853. doi: 10.1073/pnas.1611576114.

Khurana, A., Tekula, S., Saif, M., Venkatesh, P., Godugu, C. (2019). Therapeutic applications of selenium nanoparticles. *Biomed Pharmacother*, 111, 802—812. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.146.

- Kieliszek, M., & Błażej, S. (2016). Current Knowledge on the Importance of Selenium in Food for Living Organisms: A Review. *Molecules*, 21(5), 609. doi: 10.3390/molecules21050609.
- Krausova, G., Kana, A., Vecka, M., Hyrslova, I., Stankova, B., Kantorova, V., ..., Malinska, H. (2021). In Vivo Bioavailability of Selenium in Selenium-Enriched *Streptococcus thermophilus* and *Enterococcus faecium* in CD IGS Rats. *Antioxidants*, 10, 463. doi: 10.3390/antiox10030463.
- Kushnir, V., Stadnyk, O., Kasiyan, O., Kudrinskaya, V., & Basiuk, T. (2019). Assessment of selenium content in soils of different agroclimatic zones of Ukraine. *Agrokhimia*, 3, 22—31.
- Liao, J., Wang, C. (2022). Factors affecting selenium-enrichment efficiency, metabolic mechanisms and physiological functions of selenium-enriched lactic acid bacteria. *J. of Future Foods*, 2(4), 285—293. doi: 10.1016/j.jfutfo.2022.08.001.
- Malyugina, S., Skalicikova, S., Skladanka, J., Slama, P., Horky, P. (2021). Biogenic Selenium Nanoparticles in Animal Nutrition: A Review. *Agriculture*, 11, 1244. doi: 10.3390/agriculture11121244.
- Martinez, F., Moreno-Martin, G., Pescuma, M., Madrid-Albarrán, Y., & Mozzi, F. (2020). Bio-transformation of selenium by lactic acid bacteria: formation of seleno-nanoparticles and seleno-aminoacids. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 8, 506. doi: 10.3389/fbioe.2020.00506.
- Morovica, W., Roperb, J., Smitha, A., Mukerjib, P., Stahla, B., Raeb, J., & Ouwehandc, A. (2017). Safety evaluation of HOWARU® Restore (*Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus paracasei* Lpc-37, *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis Bi-04 and *B. lactis* Bi-07) for antibiotic resistance, genomic risk factors, and acute toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 316—324. doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.037.
- Mörschbacher, A., Dullius, A., Dullius, C., Brandt, C., Kuhn, D., Brietzke, D., ..., Hoehne, L. (2018). Assessment of selenium bioaccumulation in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.*, 101(12), 10626—10635. doi: 10.3168/jds.2018-14852.
- Nwadiuto, O., & Nwamaioha, S. (2018). A selective medium for the enumeration and differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *J. of Dairy Science*, 101(6), 4953—4961. doi: 10.3168/jds.2017-14155.
- Rehman, A., John, P., Bhatti, A. (2021). Biogenic selenium nanoparticles: potential solution to oxidative stress mediated inflammation in rheumatoid arthritis and associated complications. *Nano-materials*, 11, 2005. doi: 10.3390/nano11082005.
- Rybachuk, V., Berehova, T., & Kubska, M. (2020). The analysis of the assortment of medicines of mineral supplements presented at the Ukrainian market. *Bulletin of Pharmacy*, 2(100). doi: 10.24959/nphj.20.32.
- Stabnikova, O., Antoniuk, M., Stabnikov, V., & Arsenyeva, L. (2019). Ukrainian Dietary Bread with Selenium-Enriched Soya Malt. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74, 157—163.
- Stabnikova, O., Khonkiv, M., Kovshar, I., & Stabnikov, V. (2023). Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactic acid bacteria and areas of their possible applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 39(9), 230. doi: 10.1007/s11274-023-03673-6.
- Sun, Y., Wang, H., Zhou, L., Chang, M., Yue, T., Yuan, Y., & Shi, Y. (2022). Distribution characteristics of organic selenium in Se-enriched *Lactobacillus* (*Lactobacillus paracasei*). *LWT*, 165, 113699. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113699.
- Walsh, S., Kamali, N., McGrath, J., Hogan, J., Hanrahan, J. (2023). Multidimensional Application of Selenium Nanoparticles. (Accessed on 12 May 2023).
- Wang, C., Chen, H., Chen, D., Zhao, M., Lin, Z., Guo, M., ..., Li, Y. (2020). The Inhibition of H1N1 Influenza Virus-Induced Apoptosis by Surface Decoration of Selenium Nanoparticles with β-Thujaplicin through Reactive Oxygen Species-Mediated AKT and p53 Signaling Pathways. *ACS Omega*, 5(47), 30633—30642. doi: 10.1021/acsomega.0c04624.
- Zan, L., Chen, Z., Zhang, B., Zou, X., Lan, A., Zhang, W., Yuan, Y., & Yue, T. (2024). Screening, Characterization and Probiotic Properties of Selenium-Enriched Lactic Acid Bacteria. *Fermentation*, 10, 39. doi: 10.3390/fermentation10010039.