

Ю.В. Червинец, В.М. Червинец, Е.А. Беляева, Л.Е. Смирнова, А.Р. Чаркова

**ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ ШОКОЛАДА С ПРЕБИОТИКАМИ
НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА И ПОЛОСТИ РТА**

*Кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии
ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России*

В экспериментальном исследовании оценено влияние пищевого потребления шоколада без лактозы, содержащего пребиотики, и молочного шоколада «Аленка» на состояние микробиоценоза желудочно-кишечного тракта, а также на психоэмоциональное состояние девушек в возрасте от 18 до 20 лет. Значительно большее число добровольцев, употреблявших шоколад без лактозы (70%), отметили улучшение самочувствия, связанного с редукцией диспепсических ощущений и/или с положительным психоэмоциональным фоном по сравнению с участниками эксперимента, употреблявшими молочный шоколад «Аленка» (40%, $\chi^2=4,43$; $p<0,05$). Шоколад без лактозы с пребиотиками по степени нормализации микрофлоры кишечника и полости рта показал лучший результат по сравнению с шоколадом «Аленка» за счет резкого снижения частоты встречаемости (с 60% до 7%) дрожжевых грибов рода *Candida* и золотистого стафилококка на 20%.

Ключевые слова: пребиотики, молочный и безлактозный шоколад, микробиоценоз кишечника и полости рта.

**DIETARY INTAKE INFLUENCE OF CHOCOLATE WITH PREBIOTICS
ON THE INTESTINAL AND ORAL MICROFLORA**

Yu.V. Chervinets, V.M. Chervinets, E.A. Belyaeva, L.E. Smirnova, A.R. Charkova

Tver State Medical Academy

In experimental study the comparative effect of dietary intake of lactose-free chocolate with prebiotics and milk chocolate «Alenka» on microbiocenosis of gastrointestinal tract was evaluated, as well as psycho-emotional state of girls aged 18 to 20 years. A much larger number of volunteers who consumed lactose-free chocolate (70%) reported an improvement in well-being associated with the reduction of dyspeptic perceptions and /or positive psycho-emotional background compared with participants in the experiment, who consumed milk chocolate «Alenka» (40%, $\chi^2 = 4,43$; $p<0,05$). Lactose-free chocolate with prebiotics showed the best result in normalization of intestinal and oral microflora compared with chocolate «Alenka» due to a sharp decline in the frequency of occurrence (from 60% to 7%) of yeast fungi of the genus *Candida* and *Staphylococcus aureus* on 20%.

Key words: prebiotics, milk and lactose-free chocolate, microbiocenosis of intestine and the oral cavity.

Введение

В последние годы регистрируется рост контингента лиц с дисбиотическими нарушениями, нуждающихся в коррекции собственной микрофлоры [1-2]. Дисбиоз характеризуется снижением содержания резидентной кишечной флоры (бифидобактерий, кишечных палочек, лактобацилл), нередко в сочетании с увеличением числа условно-патогенных бактерий, в норме встречающихся в незначительных количествах [3-4]. В условиях нару-

шенного микробного равновесия ослабляются антигенные свойства нормальной микрофлоры, а условно-патогенная флора приобретает новую качественную характеристику [5-7].

Обязательным и важнейшим мероприятием при микробиологических нарушениях в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) является устранение причин их возникновения и эффективная терапия основного заболевания. Актуальная задача нутрициологии – внедрение в медицину действенных и доступных продуктов, содержащих пребиотические компоненты для восстановления микробиологических нарушений пищеварительного тракта.

К основным приемам сохранения и коррекции микробной экологии относится назначение пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков. Пребиотики – это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивное воздействие на организм хозяина через селективную стимуляцию роста или усиления метаболической активности нормальной микрофлоры кишечника. Пребиотики не перевариваются и не усваиваются в верхних отделах ЖКТ, но ферментируются микрофлорой толстого кишечника человека, стимулируя ее рост и жизнедеятельность. Свойства пребиотиков наиболее выражены у фруктозо-олигосахаридов, инулина, галакто-олигосахаридов, лактулозы, лактитола [8-9].

В настоящее время широкое распространение находят пищевые продукты, содержащие пребиотики, в частности, инулин. Имеются немногочисленные исследования о влиянии темного шоколада с инулином на метаболизм кишечной микрофлоры. В своем исследовании F.F. Martin убедительно доказывает, что ежедневное потребление 40 г темного шоколада в течение двух недель оказывает положительное влияние как на метаболизм здоровых людей, измененный стрессом (за счет глицина, цитрата, пролина, бета-аланина), так метаболизм желудочно-кишечного тракта, ассоциированный с присутствием в нем микробной флоры (за счет эффектов гиппурата и крезол сульфата) [10]. Н. Norhayati в своей работе указал, что продукты питания с инулином способны стимулировать рост полезных бифидобактерий в кишечнике, защищая тем самым от кишечных инфекций и повышая усвоение минеральных веществ [11]. Однако вопрос о непосредственном влиянии шоколада на микрофлору желудочно-кишечного тракта остается малоизученным.

Цель исследования – оценить влияние пищевого употребления шоколада на микрофлору кишечника и полости рта.

Материалы и методы

В экспериментальном исследовании участвовали 50 студенток Тверской государственной медицинской академии в возрасте от 18 до 20 лет, которые были разделены на две группы. Первая группа (20 человек) получала молочный шоколад «Аленка» традиционного вкуса (группа сравнения), вторая группа (30 студенток) употребляла шоколад без

лактозы с пребиотиками (основная группа). Студенты употребляли шоколад между основными приемами пищи по 25 г в день в течение 28 дней, исключив из рациона другие виды шоколада и кондитерские изделия и соблюдая режим обязательного трехразового питания.

Перед началом и после завершения эксперимента проводилось анкетирование, включающее в себя вопросы, касающиеся общего самочувствия, психологического статуса, деятельности ЖКТ, сведений о хронических заболеваниях родственников. Исследование психологического статуса включало изучение качества жизни (КЖ), интегрально отражающего многие аспекты жизнедеятельности человека в его собственной оценке (опросник Кардиологического научном центре РАН в модификации Д.М. Аронова и В.П. Зайцева, 2002). Опросник состоит из 17 пунктов, которые позволяют опрошиваемому выразить свое отношение в баллах к различным сферам жизни. Значения от «0» и выше свидетельствуют об отсутствии снижения КЖ, а все отрицательные значения (со знаком «-») об ухудшении КЖ обследуемых разной степени выраженности. Обработка материалов психодиагностического тестирования по КЖ производилась с помощью пакета программ, разработанных НМЦ «Радикс» (Москва).

Сбор и исследование кала и ротовой жидкости проводили перед началом и через 28 дней после употребления шоколада. Ротовую жидкость собирали утром натощак и вместе с калом доставляли в лабораторию не позднее 2-х часов. Микробиоценоз кишечника и полости рта изучали классическим развернутым бактериологическим и экспресс-методами (по протеолитической активности микрофлоры). Для изучения аэробной и анаэробной микрофлоры посевы производили на отечественные и импортные питательные среды: желточно-солевой агар, среду Эндо (г. Оболенск), Эритрит агар (ФГУП НПО «Микроген», Москва), Sabouraud Dextrose Agar, MRS Agar, Schaedler Agar с кровью (BBL®). Посевы культивировали в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях с использованием микроанаэроостатов и газогенераторных пакетов Gas Pack Plus (BBL®) в течение 24-72 часов при температуре 37°C. Данные экспериментов обрабатывали с помощью прикладной программы «Excel». Использованы методы описательной и аналитической статистики при сравнении групп, нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты

В ходе исследования добровольцы отмечали хорошие вкусовые качества испытуемого продукта – шоколада. Значительное большинство из них употребляли продукт с удовольствием и в дальнейшем хотели бы использовать его в питании. В основной группе (шоколад без лактозы) 73% респондентов оценили его вкусовые качества как хорошие или очень хорошие, а 27% отнеслись нейтрально или затруднились с определенным ответом. В

группе сравнения (шоколад «Аленка») эти значения были соответственно 60% и 30%, а двум женщинам (10%) шоколад не понравился по своим вкусовым качествам.

В группе сравнения 8 (40%) опрошенных отметили улучшение самочувствия после приема шоколада: 7 – улучшение, 1 – значительное улучшение (рис. 1). В основной группе этот показатель был значительно выше – 21 (70%) респондент отметил улучшение, из них у 11 (37%) оно было значительным, а 30% обследуемых оценили свое самочувствие как оставшееся «без перемен» (рис. 2).

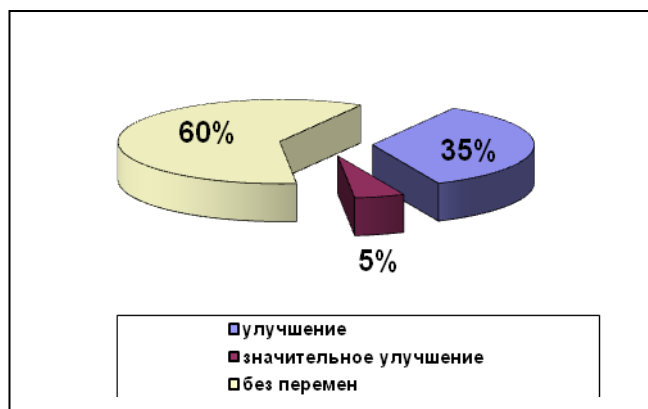


Рис. 1. Эффективность применения шоколада в группе сравнения (шоколад «Аленка»)

Значительно большее число добровольцев, употреблявших шоколад без лактозы (70%), отметили улучшение самочувствия по сравнению с участниками эксперимента, употреблявшими молочный шоколад (40%, $\chi^2=4,43$; $p<0,05$). Улучшение общего самочувствия было связано с уменьшением разных видов диспепсических ощущений и/или с положительным психоэмоциональным фоном. При этом вклад гастроэнтерологической составляющей был особенно большим в группе применения шоколада без лактозы.

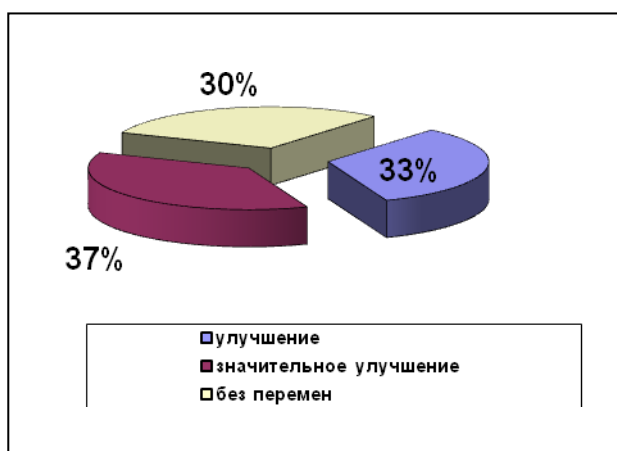


Рис. 2. Эффективность применения шоколада в основной группе обследованных (шоколад без лактозы)

Положительное влияние шоколада на психоэмоциональное состояние в обеих группах было существенным и более выраженным в основной группе (47% против 35% соответственно).

Нормализующее влияние на пищеварительную систему организма отметили 16 (54%) женщин, принимавших шоколад без лактозы, и только 4 (20%) – с лактозой ($\chi^2=5,56$; $p<0,025$).

Усредненные профили КЖ в изучаемых группах представлены на рисунках 3-4, при этом 1-е наблюдение соответствует КЖ до начала употребления шоколада, а 2-е наблюдение – КЖ по окончании экспериментального исследования.

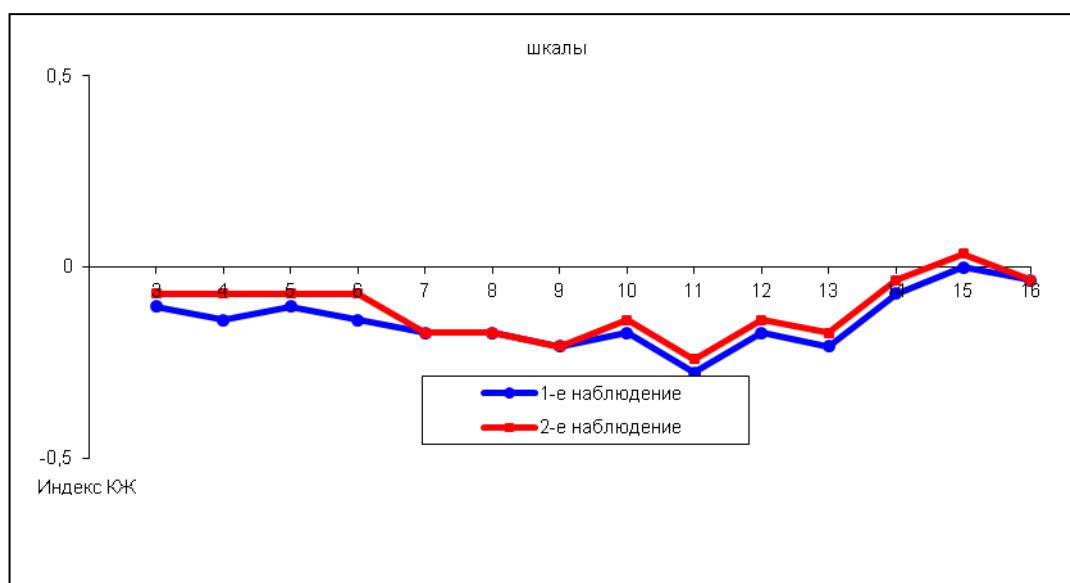


Рис. 3. Усредненные профили качества жизни добровольцев основной группы (шоколад без лактозы) в динамике наблюдения

Усредненные профили КЖ добровольцев основной группы (рис. 4) свидетельствуют о том, что во 2-м наблюдении по большинству шкал показатели КЖ несколько повысились, т.е. КЖ улучшилось. Это подтверждается суммарным индексом КЖ добровольцев, который составил в 1-м наблюдении $-1,97 \pm 0,71$, во 2-м – $-1,56 \pm 0,63$ баллов.

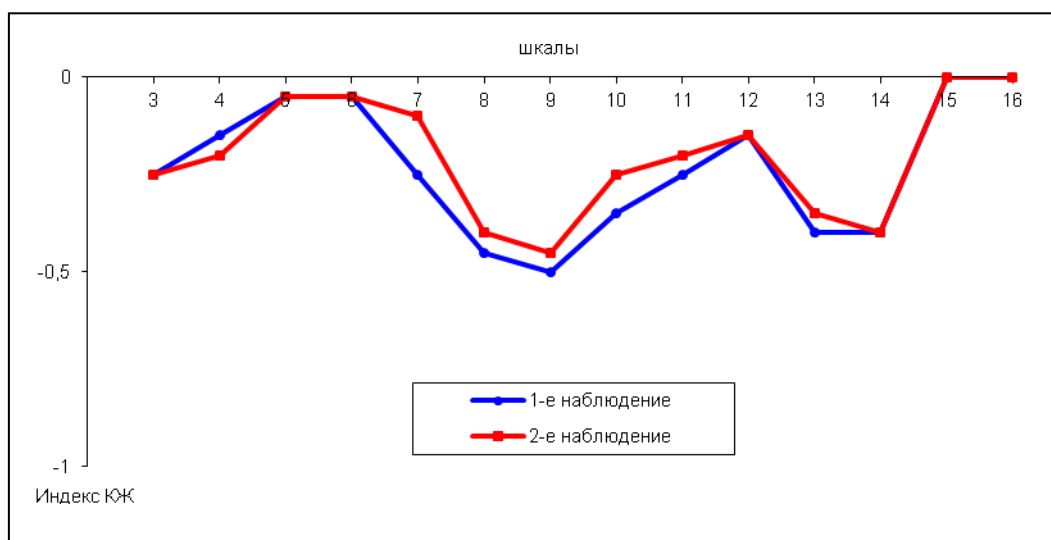


Рис. 4. Усредненные профили качества жизни добровольцев группы сравнения (шоколад «Аленка») в динамике наблюдения

Усредненные профили КЖ добровольцев группы сравнения в динамике наблюдения также свидетельствуют о некотором улучшении показателей КЖ по ряду шкал. Усредненные показатели индекса КЖ составили в 1-м наблюдении $-3,25 \pm 0,93$ и во 2-м – $-2,85 \pm 0,82$ баллов. Положительная динамика показателей КЖ в обеих группах была практически одинаковой: повышение на 0,41 и 0,40 баллов.

По результатам определения степени дисбактериоза кишечника экспресс-методом установлено, что после употребления шоколада без лактозы распространенность дисбактериоза кишечника снизилась с 97 до 77% за счет уменьшения частоты встречаемости дисбиоза 2-й и 3-й степени соответственно на 13 и 7 % (рис. 5).

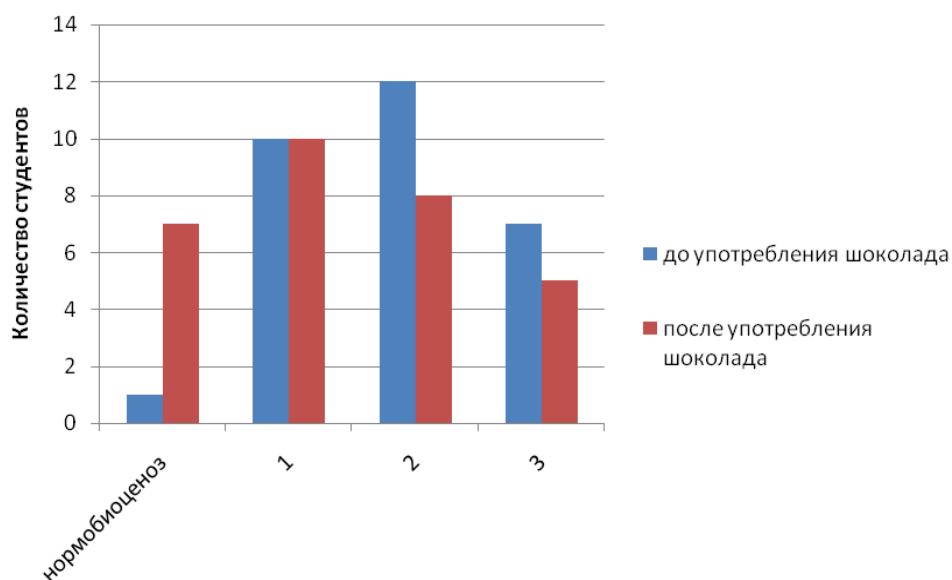


Рис. 5. Дисбактериоз кишечника до и после употребления шоколада без лактозы (n=30)

После употребления шоколада «Аленка» распространенность дисбактериоза кишечника снизилась с 95 до 85 %, при этом частота встречаемости дисбиоза 3-й степени уменьшилась на 20% с одновременным увеличением распространенности дисбиоза 1-й степени на 15% (рис. 6).

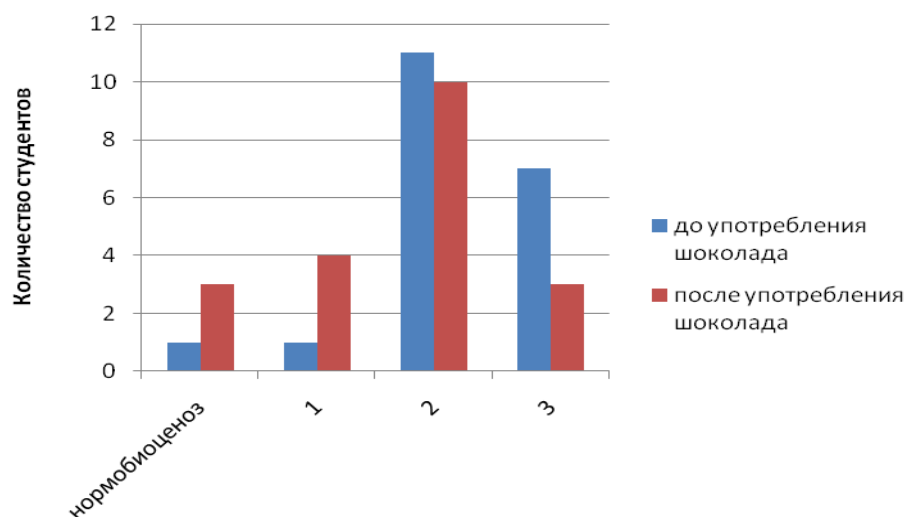


Рис. 6. Дисбактериоз кишечника до и после употребления шоколада «Аленка» (n=20)

Более детальный анализ изменения микробиоценоза кишечника и ротовой жидкости после употребления шоколада получен при развернутом бактериологическом исследовании.

У добровольцев, получавших шоколад без лактозы, в кишечнике выявлено увеличение частоты встречаемости лактобацилл с 40 до 83%, бифидобактерий – с 57 до 73%, клостридий – до 16%, а также снижение распространенности дрожжевых грибов рода *Candida* с 60 до 7%, золотистого стафилококка на 20%, условно-патогенных стафилококков на 33% (рис. 7).

Если количество бифидобактерий и типичных эшерихий увеличилось в 10 раз, то количество условно-патогенных энтеробактерий и пептококков снизилось в 10 раз, дрожжевых грибов рода *Candida* – в 40 раз, стафилококков – в 60 раз. Количество остальных микроорганизмов было примерно одинаковое.

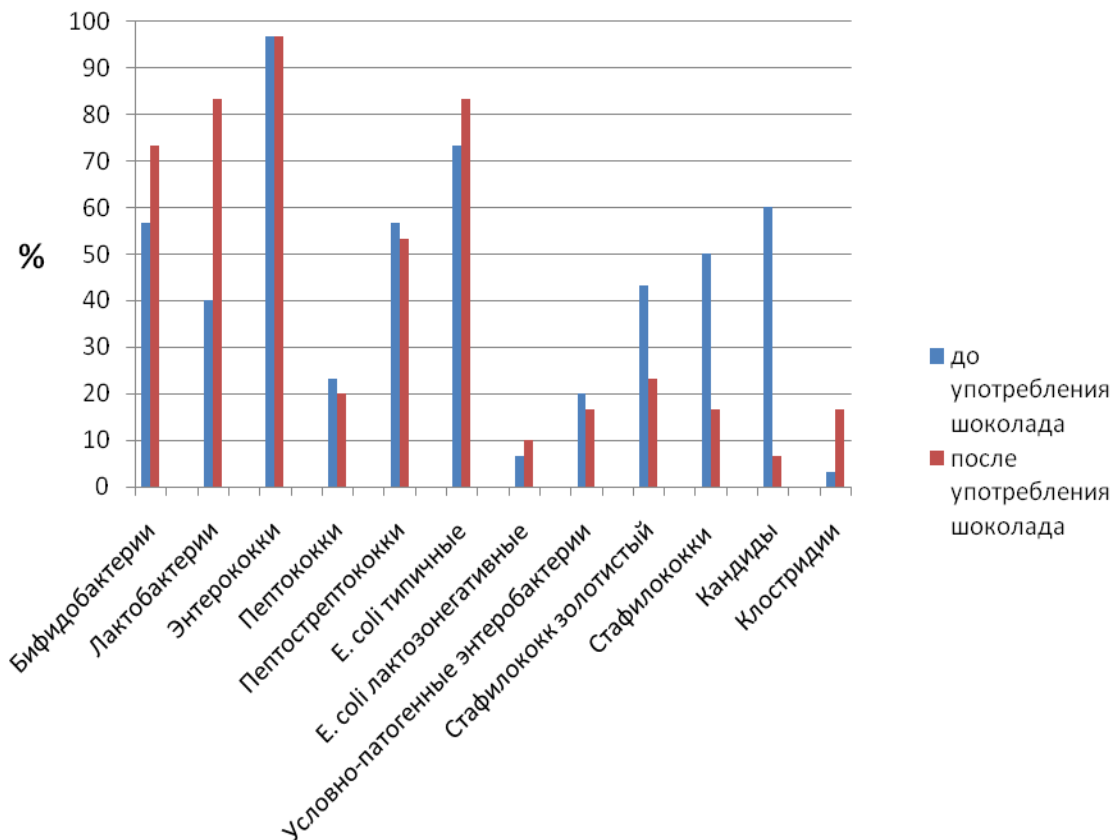


Рис. 7. Частота встречаемости микроорганизмов, выделенных из кишечника, до и после употребления шоколада без лактозы, % (n=30)

В ротовой жидкости распространенность бифидобактерий увеличилась в 7,5 раз, лактобацилл – в 2,2 раза, пептококков – в 2,4 раза. При этом уменьшилась частота встречаемости дрожжевых грибов рода *Candida* в 2,8 раза и стафилококков – в 1,8 раза.

Количество лактобацилл в ротовой жидкости увеличилось в 40 раз, остальная микрофлора выделялась примерно в таких же количествах.

С одной стороны, у добровольцев, получавших молочный шоколад, в кишечнике увеличилась частота встречаемости бифидобактерий с 30 до 65% и лактобацилл с 5 до 55%, с другой стороны, – уменьшилась распространенность дрожжевых грибов рода *Candida*, золотистого стафилококка на 10% и условно-патогенных стафилококков с 55% до 25 и 15% соответственно (рис. 8).

Количество основных микроорганизмов нормофлоры кишечника (бифидобактерий, лактобацилл и типичных *E.coli*) увеличилось в 10 раз. Количество условно-патогенных энтеробактерий, энтерококков снизилось в 10 раз, а количество других выделенных бактерий практически не изменилось.

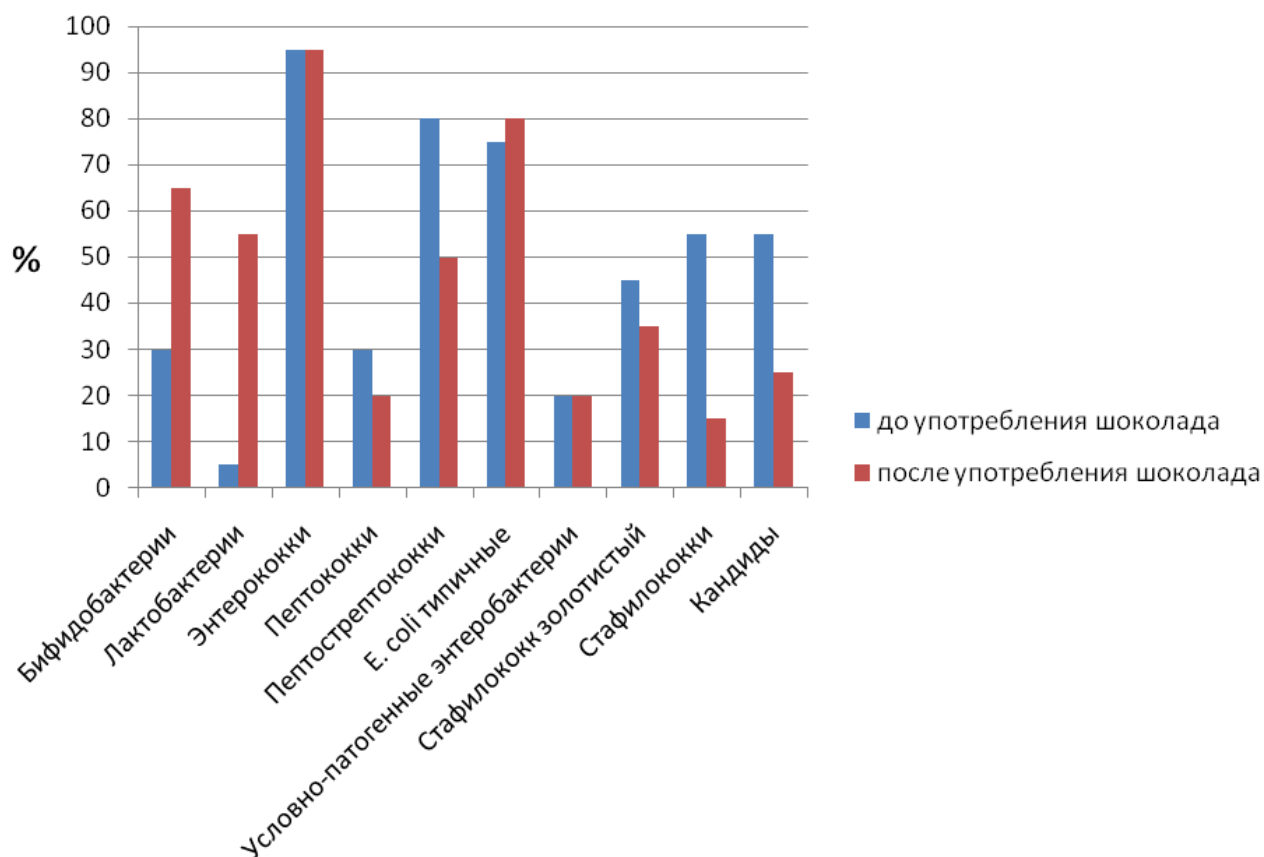


Рис. 8. Частота встречаемости микроорганизмов, выделенных из кишечника, до и после употребления шоколада «Аленка», % (n=20)

После курсового применения шоколада «Аленка» обнаружено увеличение частоты встречаемости лактобацилл в ротовой жидкости в 3 раза и бифидобактерий – в 1,7 раза, а также уменьшение выделения стафилококков и дрожжевых грибов рода *Candida* в 3 раза. На распространенность остальных бактерий шоколад «Аленка» не оказывал влияния.

Количество лактобацилл в ротовой жидкости увеличилось в 10 раз, остальная микрофлора не претерпела достоверных количественных изменений.

Заключение

По мнению большинства респондентов, курсовое употребление шоколада способствует улучшению общего самочувствия, оказывает нормализующее влияние на психоэмоциональное состояние и функцию пищеварительного тракта. При этом эффекты шоколада без лактозы (с пребиотиком и витаминами) оказались значительно выше по сравнению с шоколадом, содержащим лактозу.

Потребление шоколада оказывало благоприятное действие как на нормализацию микробиоценоза кишечника, так и полости рта и сопровождалось увеличением частоты встречаемости представителей нормофлоры и снижением числа патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Это связано, в немалой степени, с соблюдением режима питания и снижением употребления простых углеводов. При этом при употреблении шо-

колада «Аленка» явления дисбактериоза кишечника снизились на 10%, а шоколада без лактозы с пребиотиками – на 20 %.

По нормализации микрофлоры кишечника и полости рта шоколад без лактозы с пребиотиками показал лучший результат по сравнению с молочным шоколадом «Аленка» за счет резкого снижения встречаемости дрожжевых грибов рода *Candida* и золотистого стафилококка.

Таким образом, употребление шоколада без лактозы с пребиотиками в совокупности с соблюдением режима питания и диетической коррекцией оказывает выраженное нормализующее воздействие на микрофлору кишечника и ротовой полости.

Литература / References

1. Алешкин, А.В. Поликомпонентные пробиотические препараты – конструирование, производство и стратегия их продвижения на российском фармацевтическом рынке: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.01.06; 03.02.03 / Алешкин Андрей Владимирович. – Москва, 2011. – С. 36 - 37.
Aleshkin, A.V. Polikomponentnye probioticheskie preparaty - konstruirovanie, proizvodstvo i strategija ih prodvizhenija na rossijskom farmacevticheskom rynke: avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk: 03.01.06; 03.02.03 / Aleshkin Andrej Vladimirovich. - Moskva, 2011. – S. 36 - 37.
2. Червинец, Ю.В. Нарушения микробиоты желудочно-кишечного тракта здоровых людей / Ю.В. Червинец, Е.А. Беляева, В.М. Червинец, А.М. Самоукина, Е.С. Михайлова, А.И. Пятова, А.В. Червинец // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 3. – С. 55-58.
Chervinec, Ju.V. Narushenija mikrobioty zheludochno-kishechnogo trakta zdorovyh ljudej / Ju.V. Chervinec, E.A. Beljaeva, V.M. Chervinec, A.M. Samoukina, E.S. Mihajlova, A.I. Pjatova, A.V. Chervinec // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. – 2013. - № 3. – S. 55-58.
3. Бондаренко, В.М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В.М. Бондаренко, Т.В. Мацулевич. – М.: ГЭОТАР–Медиа, – 2007. – С. 8-35.
Bondarenko, V.M. Disbakterioz kishechnika kak kliniko-laboratornyj sindrom: sovremennoe sostojanie problemy / V.M. Bondarenko, T.V. Maculevich. - M.: GJeOTAR–Media, - 2007. - S. 8-35.
4. Червинец, В.М. Изменение микробиоценоза при воспалительных и эрозивно-язвенных поражениях пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки и пути ее

- коррекции: автореф. дис. ... докт. мед. наук : 03.00.07 / Червинец Вячеслав Михайлович. – М., 2002. – С. 34-36.
- Chervinec, V.M. Izmenenie mikrobiocenoza pri vospalitel'nyh i jerozivno-jazvennyh porazhenijah pishhevoda, zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki i puti ee korrekcii: avtoref. dis. ... dokt. med. nauk : 03.00.07 / Chervinec Vjacheslav Mihajlovich. – М., 2002. - S. 34-36.
5. Александрович, Н.Ж. Нарушение микробного пейзажа человека и пути их коррекции / Н.Ж. Александрович, З.И. Пирогова // Клиническое питание. – 2005. – № 2. – С. 43-46.
- Aleksandrovich, N.Zh. Narushenie mikrobnogo pejzazha cheloveka i puti ih korrek-cii / N.Zh. Aleksandrovich, Z.I. Pirogova // Klinicheskoe pitanie. - 2005. - № 2. - S. 43-46.
6. Конев, Ю.В. Дисбиозы и их коррекция / Ю.В. Конев // Consilium medicum. – 2005. – Т. 7. – № 6. – С. 432-437.
- Konev, Ju.V. Disbiozy i ih korrekcija / Ju.V. Konev // Consilium medicum. - 2005. - Т. 7. - № 6. - S. 432-437.
7. Червинец, В.М. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у детей младшего школьного возраста / В.М. Червинец, Ю.В. Червинец, А.М. Самоукина, Е.С. Михайлова, Е.А. Беляева, А.Ю. Миронов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 1. – С. 49-52.
- Chervinec, V.M. Mikrobiocenoz kishhechnika i immunnyj status u detej mladshego shkol'nogo vozrasta / V.M. Chervinec, Ju.V. Chervinec, A.M. Samoukina, E.S. Mihajlova, E.A. Beljaeva, A.Ju. Mironov // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 2013. - № 1. – S. 49-52.
8. Давыдкин, В.Ю. Технология и конструирование сухих биопрепаратов на основе микрокапельных порошков: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.01.06 / Давыдкин Валерий Юрьевич. – М., 2011. – С. 44-45.
- Davydkin, V.Ju. Tehnologija i konstruirovanie suhих biopreparatov na osnove mikrokapel'nyh poroshkov: avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk: 03.01.06 / Davydkin Valerij Jur'evich. – М., 2011. - S. 44-45.
9. Коденцова В.М., Вржесинская О.А. Обогащение рациона полиненасыщенными жирными кислотами и пищевыми волокнами: влияние на витаминный статус // Вопросы диетологии. – 2012. – Т.2, №1. – С. 25-31.
- Kodencova V.M., Vrzhesinskaja O.A. Obogashhenie raciona polinenasyshhennymi zhirnymi kislotami i pishhevymi voloknami: vlijanie na vitaminnyj status // Voprosy dietologii. – 2012. – Т.2, №1. – S. 25-31.

10. Martin F.P. Metabolic effects of dark chocolate consumption on energy, gut microbiota, and stress-related metabolism in free-living subjects / F.P. Martin, S. Rezzi, E. Peré-Trepat, B. Kamlage, S. Collino, E. Leibold, J. Kastler, D. Rein, L.B. Fay, S. Kochhar / J Proteome Res. – 2009. – № 8. – P. 5568-5579.
11. Norhayati H. Effect of storage conditions on quality of prebiotic dark chocolate / H. Norhayati, S.I. Rasma, K.A. Mohd / Malays J Nutr. – 2013. – № 19. – P. 111-119.

Червинец Вячеслав Михайлович (контактное лицо) – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России. 170642, г. Тверь, ул. Советская, 4. Тел. 8(4822) 77-54-40; e-mail: chervinets@mail.ru.