

ABSTRACT

Bifidogenic and butyrogenic effects of prebiotic arabinoxylan-oligosaccharides, a kinetic and molecular approach

Decreases in the relative abundance of *Bifidobacterium* and butyrate-producing bacterial species in the human colon have been linked to a number of diseases and disorders. Arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) are interesting prebiotics, as they have shown to stimulate bifidobacteria and the production of butyrate in the human colon, also referred to as the bifidogenic and butyrogenic effects. This work aimed at investigating the underlying mechanisms of this health-promoting dual outcome. First, a novel ion-exchange chromatography method was developed, which enabled the monitoring of AXOS degradation by colon bacteria during laboratory fermentations in a medium for colon bacteria. Secondly, the mechanistic variations in AXOS degradation by 36 bifidobacterial strains coming from different donors and 19 bifidobacterial strains isolated from one human donor were investigated. Multivariate data analysis revealed five species-independent clusters of strains representing different and even complementary AXOS degradation mechanisms. As the bifidobacterial strains from the same donor also showed differences in their degradation mechanisms, corresponding to four of the five clusters, it is possible that different strains cooperate to degrade AXOS together in the human colon, leading to a bifidogenic effect. Thirdly, co-culture fermentations with *Bifidobacterium longum* NCC2705 and butyrate-producing *Eubacterium rectale* ATCC 33656 were performed to investigate bacterial growth, AXOS consumption, metabolite production, and gene expression. These results showed that the co-cultures displayed mutual cross-feeding interactions on acetate (produced by *B. longum* NCC2705) and on arabinose and xylose (elaborated from AXOS by *E. rectale* ATCC 33656), which were responsible for the bifidogenic and butyrogenic effects of AXOS. Overall, this work contributed to a better understanding of the bifidogenic and butyrogenic effects of AXOS, which could be of importance in the rational design of prebiotics with tailor-made composition and thus increased specificity in the human colon.

Bifidogene en butyrogene effecten van prebiotische arabinoxylaan-oligosachariden, een kinetische en moleculaire aanpak

Afnamen in de relatieve hoeveelheden van *Bifidobacterium* en boterzuur-producerende bacteriële soorten in de menselijke dikke darm zijn gelinkt met verschillende aandoeningen. Arabinoxylaan-oligosachariden (AXOS) zijn interessante prebiotica omdat deze de groei van bifidobacteriën en de productie van boterzuur stimuleren in de menselijke dikke darm, ook aangeduid als de bifidogene en butyrogene effecten. Onderhavige studie had als doel de onderliggende mechanismen van dit gezondheidsbevorderend dubbel effect te onderzoeken. Eerst werd een nieuwe ionenuitwisselingschromatografiemethode ontwikkeld, die het volgen van AXOS-afbraak door colonbacteriën tijdens laboratoriumfermentaties in een medium voor colonbacteriën mogelijk maakte. Ten tweede werden de mechanistische variaties in AXOS-

afbraak van 36 bifidobacteriestammen, komende van verschillende donoren, en 19 bifidobacteriestammen, afkomstig van één menselijke donor, onderzocht. Multivariate data-analyse onthulde vijf soort-onafhankelijke clusters van stammen met verschillende en zelfs complementaire AXOS-afbraakmechanismen. Vermits de bifidobacteriestammen van eenzelfde donor ook verschillen vertoonden in hun afbraakmechanismen, corresponderend met vier van de vijf clusters, is het mogelijk dat verschillende stammen samenwerken in de dikke darm om AXOS af te breken, leidend tot het bifidogeen effect. Ten derde werden cocultuurfermentaties met *Bifidobacterium longum* NCC2705 en *Eubacterium rectale* (een boterzuurproducent) uitgevoerd om bacteriële groei, AXOS-afbraak, metabolietproductie en genexpressie te bestuderen. Deze resultaten toonden aan dat de coculturen wederzijdse interacties via cross-feeding vertoonden op azijnzuur, geproduceerd door *B. longum* NCC2705, en op arabinose en xylose, vrijgemaakt uit AXOS door *E. rectale* ATCC 33656, die verantwoordelijk waren voor de bifidogene en butyrogene effecten van AXOS. Algeheel heeft dit werk bijgedragen tot het beter begrijpen van de bifidogene en butyrogene effecten van AXOS, wat van belang kan zijn voor het ontwikkelen van op maat gemaakte prebiotica met een betere specificiteit in de menselijke dikke darm.