



Modélisation de l'effet inhibiteur des composés phénoliques sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase par l'acide gibbérellique lors du maltage du sorgho rouge (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.)

Arthur Amisi Kapepa¹, Patrick Baguma Kalimba¹, Stanis Kibi Kitambala^{1,2}, Abonvic Muselefu Ukiana¹, Michel Mubiala Katala¹, Eric Kimbemuken Thasur¹, Jean-Claude Bwanganga Tawaba¹

⁽¹⁾Université de Kinshasa. Faculté des Sciences Agronomiques. Département de Chimie et Industries Agricoles. BP 14071 Kinshasa 1 (R.D. Congo). E-mail : arthuramisi@hotmail.fr ; arthur.amisi@unikin.ac.cd

⁽²⁾Institut Supérieur Pédagogique de Bandundu. BP. 363 (RDC).

Reçu le 15 décembre 2018, **accepté** le 20 avril 2019

RESUME

L'effet de l'acide gibbérellique sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase des céréales telles que le maïs ou l'orge de brasserie n'est plus à démontrer contrairement au sorgho. L'inefficacité de l'acide gibbérellique à induire cette synthèse freine l'intégration du sorgho en industrie brassicole moderne du fait des problèmes posés par le dédoublement de l'amidon dans les conditions de brassage. Cette faible réponse de l'acide gibbérellique a été pensée comme due à la présence d'énormes quantités de polyphénols présents dans les grains de sorgho (surtout le sorgho rouge). Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de l'ajout des extraits phénoliques du sorgho rouge (extrait acétone/eau ; 70/30 (V/V) sur la réponse des grains à l'addition de l'acide gibbérellique dans la solution de trempage – réponse évaluée en termes d'activité α -amylase des malts touraillés. L'effet de la teneur en polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase a été modélisé. Les résultats de cette étude montrent que la teneur en acide gibbérellique n'a pas d'effet significatif sur la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho rouge ni d'ailleurs son interaction avec la teneur en polyphénols. Par contre la teneur en acide gibbérellique, la teneur en polyphénols ainsi que leur interaction affectent significativement la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du maïs. Le modèle obtenu montre que l'addition d'extraits acétone/eau 70/30 (V/V) réduit significativement la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho. Ces résultats confirment ainsi les inquiétudes sur le faible taux d'enzymes lors du maltage du sorgho qui est possiblement dû, en grande partie, à la présence des composés phénoliques qui réduisent significativement la réponse des grains à l'induction de la synthèse de l' α -amylases par l'acide gibbérellique quasi nulle.

Mots clés : Sorgho rouge, maltage, α -amylase, composés phénoliques, acide gibbérellique.

ABSTRACT

Modeling the inhibitory effect of phenolic compounds on the induction of α -amylase synthesis by gibberellic acid during red sorghum malting. The effect of gibberellic acid on the induction of α -amylase synthesis during corn and barley malting is well documented. The inefficacy of gibberellic acid in inducing this synthesis of amylases during red sorghum malting is a handicap for the integration of this cereal as raw materials in the modern brewing industry. The low response of gibberellic acid has been thought to be due to the presence of high amounts of polyphenols in sorghum grains (especially red sorghum). In this study, the effect of added phenolic compounds, extracted using acetone/water (70/30; V/V), on the α -amylase synthesis by gibberellic acid was evaluated in terms of residual α -amylase activity of kilned malts. The effect of the total polyphenol content on the induction of α -amylase synthesis was than modeled. The results of this study show that the gibberellic acid and his interaction with total phenolic compounds content had no effect on the induction of α -amylase synthesis during red sorghum malting. On the other hand, total phenolic compound contents significantly affected the induction of α -amylase synthesis during red sorghum malting. Contrary to sorghum malting, gibberellic acid content, total phenolic compounds content and their interaction significantly affected the induction of α -amylase during corn malting. These results confirm that amylase synthesis during red sorghum malting is a concern and may be due in large part to the presence of high phenolic compounds contents that reduce significantly grain response to induction of the α -amylases synthesis by gibberellic acid.

Key words: Red sorghum, malting, α -amylase, phenolic compounds, gibberellic acid.

1. INTRODUCTION

Une étude conduite au sein du Département de Chimie et Industries agricoles de l'Université de Kinshasa avait montré que les polyphénols extraits du sorgho rouge (extraction à l'aide d'un mélange acétone/eau 70/30 (V/V)) réduisaient la digestibilité de l'amidon par les amylases (α et β -amylases) (Bwanganga *et al.*, 2015). Cette étude fait suite à toute une série de travaux menés par notre équipe sur l'intégration du sorgho rouge en brasserie moderne (Bwanganga *et al.*, 2012a, 2012b, 2013a, 2013b, 2013c, 2015a, 2015b).

En effet, le sorgho contient plusieurs classes de composés polyphénoliques, dont la liste est loin d'être exhaustive (Beta *et al.*, 2000 ; Hahn *et al.*, 1984 ; Waniska, 2000 ; Awika *et al.*, 2003 ; Awika *et al.*, 2004). Les composés polyphénoliques du sorgho, malgré les avantages agronomiques qu'ils peuvent présenter, sont souvent suspectés de réduire la digestibilité enzymatique des protéines et des amidons et autres polysaccharides des grains de sorgho. On sait que les composés phénoliques, en raison de la multitude de groupes hydroxydes dans leurs structures et de la présence de noyaux phénoliques riches en électrons, peuvent former des complexes avec les protéines. Ces réactions de complexation peuvent être dues à la formation de ponts en H et/ou d'associations hydrophobes (Butler *et al.*, 1984) et avoir un effet sur la digestibilité aussi bien des sucres que des protéines.

Aussi les polyphénols sont soupçonnés d'être responsables de la faible induction de la synthèse des enzymes lors du maltage du sorgho et de l'annihilation de l'induction de la synthèse des amylases par l'acide gibbéréllique.

En effet, si l'effet de l'acide gibbéréllique sur l'induction de la synthèse des amylases lors du maltage de l'orge n'est plus à démontrer, cet effet n'est pas significativement prouvé dans le cas du sorgho rouge lorsque l'acide gibbéréllique est ajouté dans la solution de trempage.

Le rôle de la multitude de composés polyphénoliques - présents dans le grain de sorgho - dans le processus de germination est moins bien compris. Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de l'addition de composés phénoliques extraits du sorgho rouge, de l'acide gibbéréllique ajouté et de leur interaction sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho rouge et du maïs.

Cette étude a consisté à extraire les composés phénoliques avec un mélange acétone / eau (70/30 V/V) et à tremper les grains dans des solutions contenant des concentrations croissantes de composés phénoliques et d'acide gibbéréllique. L'effet de la teneur en polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse d' α -amylase a également été modélisé.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Maltage du sorgho rouge et du maïs

Vingt grammes (20 g) de grains ont été trempés dans 40 ml de solution de trempage contenant différents teneurs en acide gibbéréllique et extraits acétone/eau (70/30 ; V/V) pendant 16 heures. Les grains trempés ont ensuite été mis à germer pendant 72 heures à l'obscurité, puis séchés à l'étuve à 40°C pendant 48 heures. Les radicules ont été éliminées manuellement par un brossage doux. Les grains ont ensuite été broyés et tamisés (diamètre = 5 mm), puis conservés à 4°C avant l'analyse.

2.2. Extraction de l' α -amylase

Le tampon malate (malate de sodium 1 M, chlorure de sodium 1 M, chlorure de calcium 40 mM et azide de sodium 5/100 dilué à 0,1% et pH ajusté à 5,4) a été utilisé comme tampon d'extraction. Cinq cent milligrammes (0,5 g) de farine de malt provenant des différents malts obtenus ont été placés dans 10 ml de tampon et ont été extraits pendant 20 minutes à la température ambiante. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 1600 tr / min pendant 5 minutes et les surnageants ont été récupérés.

2.3. Mesure de l'activité de l' α -amylase

La solution d'acide 3,5-dinitrosalicylique a été préparée en mélangeant 2,5 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS), 75 g de tartrate de sodium et de potassium et 4 g de NaOH dans cet ordre dans 250 ml de solution, puis conservée à 4°C. Les activités α -amylase ont été mesurées en faisant réagir 200 μ l de solution de substrat (2 g d'amidon / l) avec 200 μ l d'extrait d'enzyme pendant 5 minutes à 40°C. Les sucres réducteurs libérés ont été dosés selon la méthode Miller (1959), avec quelques modifications, en ajoutant à chaque solution 400 μ l de solution de DNS et en les laissant incuber pendant exactement 5 minutes dans de l'eau bouillante. Quatre millilitres (4 ml) d'eau distillée ont été ajoutés avant de mesurer l'absorbance à 540 nm. L'activité de l' α -amylase a été calculée et exprimée en unités/gramme (U / g) - une unité étant égale à la quantité en mM d'équivalent glucose libérée par minute et par gramme de malt cuit. L'étalonnage a été réalisé avec du D-glucose (0, 0,5, 1, 1,5, 2 et 2,5 g de D-glucose par litre).

2.4. Détermination et extraction des composés phénoliques

Les polyphénols totaux ont été extraits comme décrit par Bwanganga *et al.* (2012) avec quelques modifications, et dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ainsi, 0,5 g de sorgho a été mélangé à 50 ml d'un mélange acétone/eau (70/30 ; V/V). Le mélange a été agité pendant environ 30 minutes, puis centrifugé à 1600 tr / min pendant 5 minutes. L'étalonnage a été effectué avec 4,608; 9,216; 13,824

et 18,432 ppm d'acide gallique en solution aqueuse. 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois ont été ajoutés à 500 µl d'extrait phénolique dilué 10 fois, à 500 µl d'eau distillée (blanc) et à chacune des solutions de calibration. Les mélanges ont été incubés pendant 2 minutes à température ambiante. Deux millilitres (2 ml) de solution aqueuse de carbonate de sodium (75 g / l) ont été ajoutés à chacune des solutions et les mélanges ont été incubés pendant 15 minutes à 50 °C. Après refroidissement dans la glace, les absorbances ont été mesurées immédiatement à 760 nm et la teneur en polyphénols totaux a été calculée et exprimée en mg d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme de farine. Le réactif Folin-Ciocalteu contient de l'acide phosphomolybdique et de l'acide phosphotungstique. Ce réactif forme un chromophore avec les composés phénoliques, lequel chromophore a une absorption (couleur bleue) à 760 nm.

2.5. Effet des polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho rouge et du maïs

Trois niveaux de teneurs en polyphénols totaux (0 – 0,500 et 0,625 µg d'équivalents acide gallique par ml) et trois niveaux de teneurs en acide gibbéréllique (0 – 40 et 80 ppm) ont été utilisés. Nous avons donc utilisé un dispositif factoriel (2 facteurs à 3 niveaux chacun).

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Les grains de sorgho rouge utilisés avaient une teneur totale en polyphénols de $17,3 \pm 0,9$ mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme. L'effet de la concentration en acide gibbéréllique et de la concentration en polyphénols totaux sur la synthèse de l' α -amylase au cours du maltage est présenté à la figure 1 et l'ANOVA à 2 voies est présentée au tableau 1.

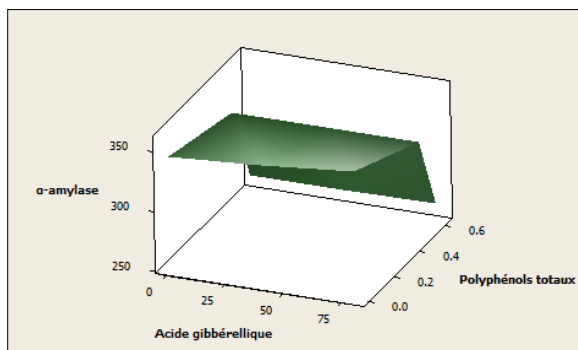


Figure 1. Diagramme de surface décrivant l'effet de la teneur en polyphénols totaux et en acide gibbéréllique sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase lors du maltage d'un écotype de sorgho rouge. Trois niveaux de teneurs en polyphénols totaux (0 ; 0,500 et 0,625 g d'équivalents acide gallique par millilitre) et trois niveaux de teneurs en acide gibbéréllique (0 ; 40 et 80 ppm) ont été utilisés pour tester

l'effet des deux facteurs (teneur en polyphénols et teneur en acide gibbéréllique).

Cette figure montre que l'activité α -amylase diminue lorsque la teneur en polyphénols totaux augmente, alors que ce n'est pas le cas pour la teneur en acide gibbéréllique. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance qui est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1. ANOVA deux critères (effet de la concentration en acide gibbéréllique et de la concentration polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho rouge). Ce modèle montre que l'effet de la teneur en acide gibbéréllique et l'effet de l'interaction de la teneur en acide gibbéréllique et de la teneur en polyphénols totaux ne sont pas significatifs alors que la teneur en polyphénols totaux affecte significativement la synthèse de l' α -amylase lors du maltage.

| Source | DL | carrés | CM | F | P |
|-----------------------|----|---------|---------|---------|-------|
| GA3 (ppm) | 2 | 93.9 | 46.9 | 2.81 | 0.087 |
| Polyphénols (mg GAE/) | 2 | 37065.9 | 18532.9 | 1109.51 | 0.000 |
| Interaction | 4 | 115.0 | 28.8 | 1.72 | 0.189 |
| Erreur | 18 | 300.7 | 16.7 | | |
| Total | 26 | 37575.4 | | | |

S = 4.087 R carré = 99.20 % R carré (ajust) = 98.84 %

Pour évaluer l'effet de l'extrait en polyphénols totaux (extrait acétone/eau ; 70/30, v/v) sur la synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho rouge, 100 g de sorgho rouge ont été trempés dans une solution contenant 400 ppm d'acide gibbéréllique et des concentrations croissantes en polyphénols totaux 0 – 0,500 – 0,625 – 0,750 – 0,850 et 1 g d'équivalents acide gallique par ml de solution de trempage. L'activité α -amylase en fonction de la teneur en polyphénols totaux a été modélisée en tenant compte du fait que la teneur en α -amylase tend vers une valeur minimale non nulle (AA_{min}) lorsque la teneur en polyphénols totaux tend vers l'infini et tend vers une valeur maximale finie (AA_{max}) lorsque la teneur en polyphénols totaux tend vers zéro.

$$\lim_{APC \rightarrow \infty} AA = AA_{min} \quad (\text{Equation 1})$$

$$\lim_{APC \rightarrow 0} AA = AA_{max} \quad (\text{Equation 2})$$

Où AA, AA_{min} , AA_{max} et APC représentent respectivement l'activité α -amylase, l'activité α -amylase minimale, l'activité α -amylase maximale et la teneur en composés de polyphénols ajoutés. Les paramètres de démarrage de l'itération de ce modèle logistique, ont été obtenus en plotant $\ln \frac{AA_{min} - AA}{AA - AA_{max}}$ en fonction de $\ln APC$. Les paramètres C et D ont été obtenus à partir de la droite d'Equation 4 obtenue à partir des données expérimentales. Les vraies valeurs des paramètres du modèle ont été obtenues en utilisant l'algorithme de Gauss-Newton et une tolérance de convergence de 0,00001, après avoir fixé

les valeurs de C et D égales à celles obtenues avec des données expérimentales (droite de l'Equation 4) à l'aide du logiciel Minitab 16.

$$AA = AA_{max} + \frac{AA_{min} - AA_{max}}{1 + \exp\left(\frac{C \ln^2 \frac{APC}{D}}{D}\right)} \quad (\text{Equation 3})$$

Qui peut être transformé en :

$$\ln \frac{AA_{min} - AA}{AA - AA_{max}} = C \ln APC - C \ln D (\text{Equation 4})$$

La courbe décrivant l'évolution de l'activité de l'α-amylase en fonction de la concentration en composés polyphénoliques ajoutés est donnée à la Figure 2.

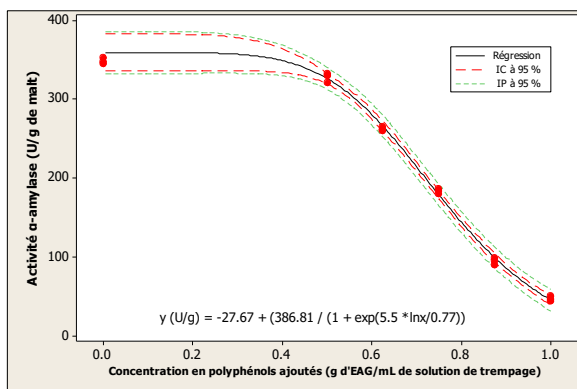


Figure 2. Fonction d'ajustement décrivant l'effet de la teneur en polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l'α-amylase. Ce modèle montre que l'augmentation de la teneur en polyphénols induit une réduction de l'induction de la synthèse de l'α-amylase.

Les valeurs ajustées suivent une distribution normale de moyenne nulle (Figure 3) ce qui signifie une meilleure adéquation du modèle utilisé.

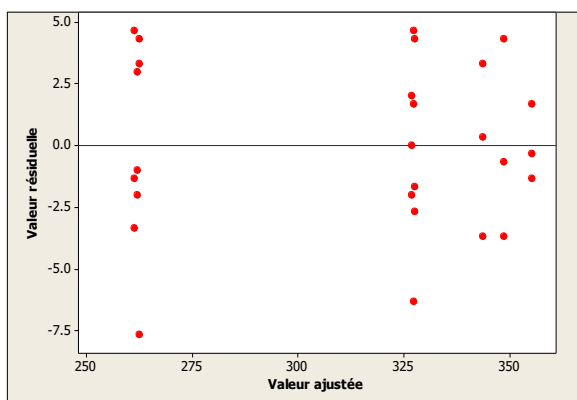


Figure 3. Valeurs résiduelles en fonction des valeurs ajustées du modèle décrivant l'effet de la teneur en polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l'α-amylase.

L'effet de la concentration en acide gibbérellique et de la teneur totale en polyphénols a ensuite été testé lors de la germination d'une variété de maïs.

Contrairement aux observations faites sur le sorgho rouge (Tableau 1), la concentration en acide gibbérellique et en polyphénols totaux ainsi que leur interaction ont des effets significatifs sur l'induction de la synthèse de l'α-amylase (Figure 4 et Tableau 2) lors du maltage du maïs. Cela confirme les inquiétudes concernant la faible activité amylasique dans le sorgho malté qui pourrait être dû à une réponse quasi nulle de l'acide gibbérellique à l'induction de la synthèse des amylases lors du maltage.

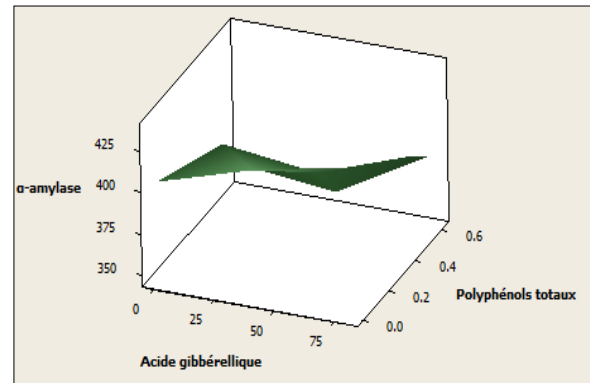


Figure 4. Effet de la teneur en polyphénols totaux et en acide gibbérellique sur l'induction de la synthèse de l'α-amylase lors du maltage d'un écotype de maïs. Trois niveaux de teneurs totales en polyphénols (0, 0,500 et 0,625 g d'équivalent acide gallique par millilitre) et trois niveaux d'acide gibbérellique (0,40 et 80 ppm) ont été utilisés pour tester les deux facteurs.

Tableau 2. ANOVA deux critères (effet de la concentration en acide gibbérellique et de la concentration en polyphénols totaux sur l'induction de la synthèse de l'α-amylase lors du maltage du maïs). Trois niveaux de teneurs totales en polyphénols (0, 0,500 et 0,625 g d'équivalent acide gallique par millilitre) et trois niveaux d'acide gibbérellique (0,40 et 80 ppm) ont été utilisés pour tester les deux facteurs.

| Source | DL | Somme des carrés | CM | F | P |
|---|----|------------------|---------|--------|-------|
| GA3 (ppm) | 2 | 3033.4 | 1516.70 | 42.61 | 0.000 |
| Polyphénols (mg EAG/) | 2 | 14328.1 | 7164.04 | 201.28 | 0.000 |
| Interaction | 4 | 736.1 | 184.04 | 5.17 | 0.006 |
| Erreur | 18 | 640.7 | 35.59 | | |
| Total | 26 | 18738.3 | | | |
| S = 5.966 R carré = 96.58 % R carré (ajust) = 95.06 % | | | | | |

Les résultats de la Figure 4 et du Tableau 2 montrent que les composés phénoliques totaux, l'acide gibbérellique et l'interaction de ces deux facteurs affectent de manière significative la synthèse de l'α-amylase lors du maltage de maïs. Ces résultats montrent également que les composés phénoliques jouent un rôle important dans l'inhibition de la synthèse de l'α-amylase lors du maltage. Leur élimination a déjà été suggérée comme moyen pour améliorer la réponse des phytohormones lors du maltage du sorgho rouge (Bwanganga, 2013).

La synthèse de l' α -amylase lors du maltage du sorgho est l'une des préoccupations des malteurs de sorgho, en particulier ceux qui travaillent dans l'agriculture biologique, et entrave son intégration en tant que matière première dans l'industrie brassicole moderne et artisanale. Des discussions avec des professionnels révèlent que les polyphénols joueraient un rôle important dans la synthèse des amylases lors du maltage du sorgho. Bien que les preuves moléculaires ne soient pas clairement établies, les résultats de cette étude montrent que l'augmentation de la teneur en extrait phénolique dans la solution de trempage réduit l'induction de la synthèse de l' α -amylase. Ces résultats ne signifient pas nécessairement que l'acide gibbérellique n'affecte pas l'induction de la synthèse de l' α -amylase, d'autant plus que la synthèse endogène de cette phytohormone n'a pas pu être évaluée avec précision et que les composés phénoliques endogènes totaux n'ont pas été complètement éliminés avant la germination. Il avait été démontré que le maltage réduisait la teneur en polyphénols totaux des grains (Bwanganga *et al.*, 2012). Par conséquent, des études sur la modélisation de la diffusion à la fois de l'acide gibbérellique exogène et des polyphénols ajoutés doivent être effectuées afin de prouver que, dans le cas du sorgho, les molécules présentes dans la solution de trempage avaient suffisamment de temps que pour diffuser dans les grains et être perçues au niveau du scutellum et des cellules de la couche aleurone pour induire la synthèse de l' α -amylase.

La superposition de l'hydrolyse des constituants de l'endosperme et la synthèse de nouvelles molécules dans le germe (Lewis et Bamforth, 2006) compliquent la compréhension de la séquence des événements et des multiples systèmes de régulation. Les enzymes directement impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon sont : l' α -amylase, la β -amylase, l' α -glucosidase et la dextrinase limite. Ces enzymes hydrolysent l'amidon dans l'endosperme pour fournir les sucres simples qui sont ensuite absorbés par le germe pour répondre aux besoins énergétiques et synthétiques. Ceci est également vrai pour les protéines qui fournissent le pool d'acides aminés nécessaire à la synthèse de nouvelles protéines, de lipides et d'une variété de polysaccharides non amyliques (β -glucanes, pentosanes, xylanes, cellulose, etc.).

On sait à l'heure actuelle que la synthèse et/ou l'activation des enzymes nécessaires à l'hydrolyse des constituants du grain ont lieu à deux endroits, à savoir : la couche d'aleurone et/ou le scutellum. Ce qui n'est pas encore clairement établi pour le sorgho, c'est la distribution exacte de cette localisation et l'effet des conditions de maltage sur la synthèse des enzymes de chacun des sites. D'autre part, la synthèse de ces enzymes, qui est initiée lorsque les conditions de germination sont rendues possibles (humidité,

aération, température, etc.), est de plus en plus régulée à mesure que le processus de germination progresse - d'où la nécessité de connaître les mécanismes exacts de régulation des enzymes clés.

Selon Bwanganga (2013) la faible réponse de l'acide gibbérellique est probablement due aux interactions diverses, mais non identifiées, entre la multitude de composés présents dans le grain et parfois libérés lors du maltage, et les phytohormones ajoutés, ainsi que la superposition des phénomènes de diffusion des molécules présentes dans les solutions de trempage, l'élimination des composés inhibant la germination pendant le trempage et les synthèses endogènes à la fois des phytohormones et des enzymes dans le grain.

4. CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des composés phénoliques du sorgho sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase par l'acide gibbérellique lors du maltage du sorgho rouge. Les résultats de cette étude ont montré que l'utilisation de l'acide gibbérellique lors du maltage du sorgho rouge n'affecte pas significativement la synthèse de l' α -amylase alors que lors du maltage du maïs l'effet de l'acide gibbérellique sur la synthèse de cette enzyme est significatif. Cette étude a aussi permis de montrer que l'effet de la réduction de l'induction de la synthèse de l' α -amylase peut être modélisé en utilisant une modélisation logistique confirmant ainsi l'effet négatif des extraits phénoliques du sorgho sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase. Cette étude confirme les inquiétudes sur le faible taux d'enzymes lors du maltage du sorgho rouge qui est possiblement dû à une réponse quasi nulle de l'acide gibbérellique sur l'induction de la synthèse de l' α -amylase lors du maltage.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ONG Feed my people pour son soutien financier à la réalisation de cette recherche.

Références

- Awika, J.M., Dykes, L., Gu, L., Rooney, L.W. and Prior, R.L., 2003. Processing of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products alters procyanidin oligomer and polymer distribution and content. *J.Agric. Food Chem.*, 51, 5516-5521.
- Awika J.M. & Rooney L.W., 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65, 1199-1221.
- Beta, T., Rooney, L.W., Marovatsanga, L.T. & Taylor, J.R.N., 2000. Effect of chemical treatment on polyphenols and malt quality in sorghum. *J. cereal sci.*, 31, 295-302.
- Butler L.G., Riedl D.J., Lebryk D.G. & Blutt, H.J., 1984. Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 916

- Bwanganga T.J-C., Béra, F. &Thonart P., 2012a. Optimizing red sorghum malt quality when *Bacillus subtilis* is used during steeping to control mould growth. *J. Inst. Brew.*, 118(3), 295-304
- Bwanganga T.J-C., Béra, F. &Thonart P., 2012b. Modelling the β -amylase activity in red sorghum malting when *Bacillus subtilis* is used to control mould growth. *Journal of Cereal Science*, 57 (1), 115 – 119.
- Bwanganga T. J-C., Kouadio P.B., Malumba K.P., Destain J., Béra F. & Thonart P., 2013a. Suitability of the Weibull four-parameters model to predict the induction phase of α -amylase production during red sorghum malting when a steep in dilute NaOH is used prior to a re-steep in a *Bacillus subtilis*-S499 based treatment. *J. Inst. Brew.*, 119: 265–270.
- Bwanganga T. J-C., Ba K., Destain J., Malumba P., Béra F., & Thonart P., 2013b. Vers une utilisation du sorgho comme matière première pour brasserie moderne. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 17(4), 622-633
- Bwanganga T. J-C., Destain J., Malumba K. P., Béra F. & Thonart P., 2013c. Effect of the use of dilute alkaline prior to *Bacillus subtilis*-based biocontrol steeping and germination conditions on red sorghum malt β -glucanase activities and residual β -glucans. *Journal of Cereal Science*, 58(1), 148-155.
- Bwanganga T.J-C., Buetusiwa T., Minengu J., Kibal I. &Tshiala H., 2015a. Effects of phenolic compounds on the hydrolysis of red sorghum starch by extracted red sorghum malt α - and β -amylases. *Starch-Stärke*, 67, 854-859.
- Bwanganga T. J-C., 2015b. Effect of cold shock on the enhancement of β -amylase activity during malting and malt processability for a red sorghum intended for brewing use: Effect of cold shock on the enhancement of β -amylase. *Journal- Institute of Brewing*, 121 (2), 219-223.
- Bwanganga T. J-C., Amisi K.A., Kabiona F. & Baguma K.P., 2018. Modélisation de la déshydratation et de la destruction de l'activité de α -amylase lors du touraillage d'un malt vert d'un écotype de sorgho rouge. *Revue Africaine d'Environnement et d'Agriculture*, 1(2), 1-9.
- Hahn, D.H., Rooney, L.W. & Earp C.F., 1984. Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World* 29, 776–779.
- Lewis M.J. & Bamforth, C.W., 2006. *Essays in Brewing Science*, University of California–Davis, USA.
- Miller G.L., 1959. Use of DNS Acid Reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chem* 31: 426-428.
- Ratnavathi C.V. & Chavan U.D., 2006. *Malting and Brewing of Sorghum* in *Sorghum biochemistry: An Industrial Prospectives*. Oxford: Academic Press, 2016, pp. 63-106.
- Waniska R.D., 2000. Technical and institutional options for sorghum grain mold management: proceeding of an International consultation. Chandrashekar A Bandyopadhyay R Hall A.J. Eds ICRISAT Patancheru India. pp. 72–106.