

# Préparation et Application Industrielle de la Lipodiastase des Graines de Ricin.

Par

**MM. Gen-itsu Kita et Minoru Osumi.**

(Le 17 Jan. 1923.)

---

Dans la préparation industrielle de la lipodiastase des graines de ricin, si l'on manipule des tourteaux sans purification, comme MM. Connstein, Hoyer et Wartenberg<sup>1</sup> l'ont essayé pour la première fois, l'eau glycerinée qui en résulte est souillée par l'albumine des tourteaux, de sorte que la purification est très difficile. En outre, entre les couches d'eau et d'acide gras, il se forme une couche intermédiaire composée de tourteaux qui contiennent un mélange d'eau glycerinée et d'acide gras. La separation de ces constituants est si difficile, que l'application de ce procédé est industriellement impossible.

C'est pourquoi on a essayé la séparation de la lipodiastase sous forme concentrée, par conséquent très active, quoique, naturellement elle ne soit pas pure.

D'après le procédé de M. Nicloux,<sup>2</sup> on broie des graines de ricin et on agite énergiquement avec un solvant de densité comprise entre 1,2-1,4, alors la partie active reste en suspension dans le solvant, d'où on peut séparer la diastase qui est très active, tandis que la partie inactive se dépose au fond du solvant. Ce procédé a été également essayé par M. Hoyer.<sup>3</sup>

D'après un autre procédé de M. Nicloux,<sup>4</sup> on mélange des graines broyées

---

1) Ber., **35**, 3988 (1902).

2) Contribution à l'étude de la saponification des corps gras (1906).  
Zeitschr. f. physiol. Chem., **50**, 425 (1907).

3) Zeitschr. f. physiol. Chem., **50**, 426 (1907).

4) D. R. P.. 188511.

avec de l'huile, puis on tamise pour en séparer les gros morceaux et on traite le reste du mélange à la centrifuge. Alors de petits éléments de protoplasma constituent à la partie supérieure du dépôt une couche séparée de celle qui contient l'aleurone. La lipodiasse active est dans cette couche de protoplasma. M. Jalender<sup>1</sup> a essayé ce procédé et obtenu de bons résultats. Mais ces deux procédés sont encore difficiles à appliquer sur une grande échelle.

M. Hoyer<sup>2</sup> a trituré des graines avec de l'eau et ensuite a séparé l'émulsion qui contient la partie diastatique du résidu par la centrifuge. En laissant l'émulsion fermenter dans des conditions d'antiseptie absolue, le produit obtenu est acide. La diastase avec de l'huile vient à la surface de la solution sous forme de crème. Ce procédé seul est appliqué industriellement.

D'après le procédé de M. Tanaka,<sup>3</sup> des graines décortiquées sont triturées avec une solution acide convenable pour activer et ensuite lavées pour exclure les parties solubles. Cette diastase contient les substances insolubles. L'expérience répétée en grand dans des conditions industrielles n'a pas donné de résultats pratiques.

Dans nos travaux, nous avons essayé d'abord quelques propriétés de la lipodiasse des graines de ricin et nous avons constaté les résultats suivants.<sup>4</sup>

1. Action des acides sur les graines. Comme M. Hoyer<sup>5</sup> l'a remarqué, les acides ont la propriété de rendre active la lipodiasse naturelle des graines, et la diastase activée fonctionne bien dans le medium neutre, mais celle qui a été lavée à fond à plusieurs reprises fonctionne mieux dans le medium un peu acidifié. M. Armstrong<sup>6</sup> a pensé que l'acide a une autre action en dehors de l'activation de la diastase, parce que quand on fait agir sur des graines déshuilées, c'est à dire hors de la présence de l'huile, la quantité d'acide, la plus favorable à l'action sur des graines non privées de l'huile, on remarque après lavage que la diastase est inactive, -soit que l'on observe directement les graines, -soit même qu'on y ajoute une nouvelle quantité

---

1) *Bioch. Zeitschr.*, **36**, 435 (1911).

2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **50**, 430 (1907).

3) *Journ. Coll. Eng. Tokio*, **5**, 125 (1910).

4) *Journ. Chem. Soc. Tokio*, **39**, 387 (1919). *Chem. Abst.* **13**, 27, 1509 (1919).

5) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **50**, 432 (1907); **12**, 1129 (1913).

6) *Proc. Roy. Soc., London, B.* **76**, 606 (1905).

d'acide. Nous pensons que ce fait est causé parce que l'acide agit non seulement pour activer la diastase inactive, mais également pour détruire la diastase activée. Ce dernier résultat se produit très rapidement quand il n'y a pas d'huile, quoique l'activité puisse être préservée par la présence d'huile.

2. Quantité d'acide optima pour effectuer la saponification de l'huile en présence des tourteaux.

Comme M. Hoyer<sup>1</sup> l'indique, la quantité d'acide optima dépend du degré de dissociation de l'acide, et celle d'acide fort est moindre que celle d'acide faible. Mais, contrairement à son résultat, d'après lequel la quantité optima de n'importe quel acide causerait la saponification au même degré, nous avons trouvé que l'acide fort décomposait moins que l'acide faible. En outre, il dit que pour une certaine quantité de graines, une certaine quantité d'acide est nécessaire, et qu'elle ne dépend pas de la dilution. Mais dans notre expérience, la quantité optima dépend de la concentration; naturellement dans une certaine limite on ne peut pas remarquer de différence comme les expériences de M. Hoyer l'indiquent.

3. Quantité d'acide optima pour la préparation de la diastase active, en mettant des graines dans une solution acide pendant un certain temps, et lavant ensuite pour obtenir la diastase activée.

(a) La quantité optima dépend de la quantité d'huile qui se trouve dans les graines, c'est à dire que les graines qui contiennent le plus d'huile ont besoin de plus d'acide que celles qui contiennent moins d'huile dans les mêmes conditions. C'est pour cette raison que l'acide qui rend la diastase active, la détruit ensuite, tandis que la présence d'huile protège contre cette dernière action.

(b) La quantité d'acide dépend encore de la finesse du broyage des graines,

(c) de la durée,

(d) de la température d'action de l'acide.

Si les graines sont broyées plus finement, si on augmente la durée de l'action et si on élève la température, la quantité optima est plus faible que dans les cas contraires.

---

1) Ber. 37, 1441 (1904).

(e) Ici aussi la quantité optima d'un acide dépend de sa concentration; surtout dans le cas de l'acide fort, l'influence est remarquable.

4. Etude de l'acide obtenu par filtration dans le traitement ci-dessus.

Le liquide filtré après l'activation des graines par la quantité optima d'acide se comporte vis-à-vis des graines fraîches d'une façon différente suivant la sorte d'acide employé. Si l'on emploie un acide fort, le contenu filtré n'a aucune action, tandis qu'avec un acide faible, il a encore le pouvoir d'activer. La quantité d'acide dans le contenu filtré se trouve presque la même que la quantité initiale, dans le cas d'un acide faible, tandis que, dans le cas d'un acide fort, elle est beaucoup moins considérable que la quantité initiale. Cependant, si l'on emploie de l'acide en excès, même en cas d'acide faible, la quantité d'acide restant dans le contenu filtré est plus petite que la quantité initiale. Ceci indique qu'un acide fort ou un acide faible en excès est consommé pour la neutralisation de quelque constituant des graines et la quantité consommée augmente avec la quantité d'acide initiale. En outre l'acide qui se trouve dans le filtrat en cas d'un acide fort est un acide de nature différente partiellement ou entièrement suivant qu'on l'emploie en excès ou non.

5. Si on lave des graines broyées avec de l'eau qui contient du chlorure de sodium ou de calcium, elles sont beaucoup moins actives après activation avec l'acide par n'importe quel procédé décrit ci-dessus. Mais si on emploie de l'eau contenant ces sels et de l'acide on peut éviter l'influence des sels.

6. La lipodiastase des graines se comporte entièrement différemment vis-à-vis de l'alcool et de l'eau, au contraire des autres diastases. Elle perd son activité par le traitement avec l'alcool et ensuite elle ne la recouvre pas et les graines deshuilées sont très instables vis-à-vis de l'eau comme M. Nicloux<sup>1</sup> l'a trouvé.

Tous ces résultats montrent que la lipodiastase inactive est activée par l'acide, que son activité se conserve bien dans l'huile, et que sa propriété

---

1) Ibid, 47, Ubbelohde und Goldschmidt, Handbuch der Chemie und Technologie der Ole und Fette, 3, 49 (1910).

Jalender, Biochem. Zeitschrift, 36, 454, 1911 et Tanaka, ibid, n'ont pas constaté ce fait. Cela provient peut être du fait que les échantillons n'étaient pas complètement deshuilés.

vis-à-vis de l'alcool et sa filtrabilité sont tout à fait différentes de celles d'une autre diastase.

Nous avons essayé la préparation de la diastase et ses nouveaux procédés d'application en grand, et avons trouvé les deux procédés suivants qui sont très simples et sûrs.

Procédé I. Ce procédé est une modification de celui de M. Hoyer. Des graines décortiquées sont broyées dans de l'eau. Dans ce cas, il est préférable d'employer des graines qui ne sont pas déshuilées pour tenir la diastase en bonne condition. L'émulsion qui en résulte est centrifugée ou laissée tranquille pour séparer les pièces grosses. Sur l'émulsion on met l'acide convenable, alors la diastase activée s'assemble graduellement à la surface du liquide. Dans ce procédé on emploie l'acide au lieu de la fermentation naturelle, de sorte que le traitement est simple et sûr. Voici, des exemples :

(a) 1,5 kg. de graines décortiquées sont broyées en pâte fine avec 15 litres d'eau, on laisse reposer pendant une nuit et le lendemain on sépare l'émulsion qui reste sur le sédiment. Pour 1 litre d'émulsion on met 10 centimètres cubes d'acide acétique normal, alors au bout de quelques heures la diastase s'assemble comme une crème sur la solution. Celle-ci séparée et filtrée contient 63,2 d'eau et 32,6% d'huile et par conséquent 4,2% de solide actif. 10% de cette diastase c'est à dire 0,42% de solide avec 40% d'eau décompose 56% d'huile de soya maintenue pendant trois heures aux environs de 27°C.

(b) 1kg. de graines décortiquées est broyé avec 13 litres d'eau et laissé pendant une nuit. Le lendemain on sépare 10 litres de l'émulsion et on y ajoute 6 centimètres cubes d'acide acétique glacial dilué avec 100 centimètres cubes d'eau. Après 8 heures on sépare 1,5 litre de la crème qui contient 1,38 du solide.

Les résultats de la saponification par cette diastase sont les suivants.

	(1)	(2)	(3)
Huile de soya en gr.	500	500	500
Crème en gr.	250	125	62·5
Solide actif en gr. pour			
100 gr. d'huile	0·67	0·34	0·17

Pour cent de l'huile hydrolysée.

La durée de l'action en heures

à 25°C. environ

4	67·0	56·0	28·0
12	90·5	83·3	54·3
20	93·7	89·7	64·8

Procédé 2. Dans ce procédé on forme la diastase dans l'huile qui doit être hydrolysée par la même diastase. Des graines décortiquées ou non sont broyées en pâte fine et mélangées avec l'huile, les pièces grosses sont filtrées à l'aide d'une toile. Puis l'huile est lavée avec beaucoup d'eau trois ou quatre fois. Pour terminer on ajoute l'acide dilué. L'huile récupérée contient alors la diastase activée et elle est prête à être saponifiée. Par exemple, 150 gr. de graines décortiquées sont broyées en pâte fine avec 3 kg. d'huile de soya et filtrées à travers une toile de coton. Ensuite on mélange avec 5 litres d'eau et laisse reposer, alors l'émulsion avec la diastase se sépare à la surface de l'eau qui contient des pièces grosses. On répète encore deux fois la même opération et la dernière fois on met 100 centimètres cubes d'acide acétique normal dans l'eau. Alors on obtient 3800 gr. d'émulsion, c'est à dire que 3000 gr. d'huile originale sont émulsionnés avec 800 centimètres cubes environ d'eau. On met encore 700 centimètres cubes d'eau pour réaliser un mélange d'eau et d'huile à 50%. D'après l'analyse d'une partie du produit, l'émulsion contient 1 gr. de solide diastatique pour 100 gr. d'huile et après environ 20 heures à 25°C. l'huile est saponifiée dans une proportion dépassant 90%.

Dans ces procédés la séparation d'eau glycerinée n'est pas très difficile parce qu'elle ne contient qu'une petite quantité de solide. Des produits décomposés sont entièrement ou partiellement émulsionnés selon le cas. Pour séparer cette émulsion, le supercentrifuge de Shaple et Cie donne de bons résultats. On peut encore la séparer à l'ébullition avec moins de 2% d'acide sulfurique sans la formation d'une couche intermédiaire.